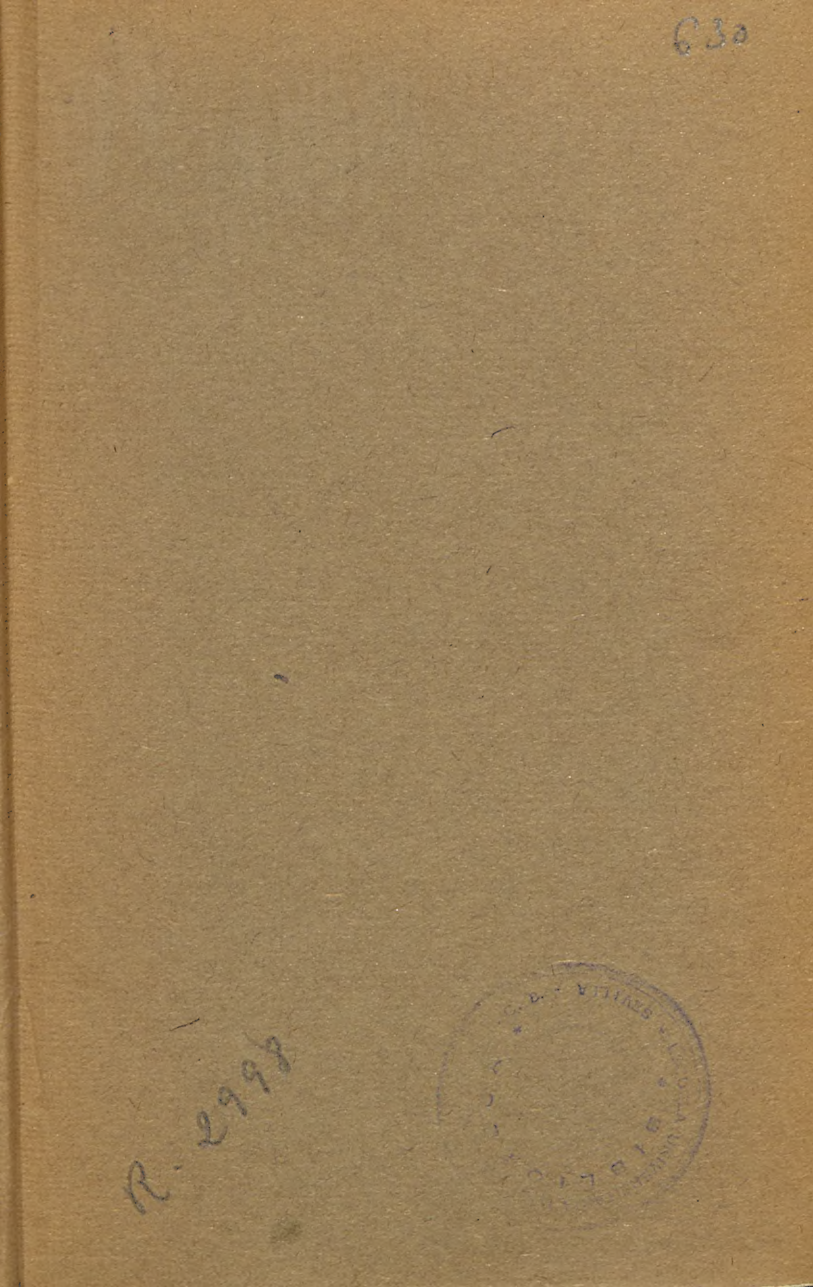
ENCICLOPEDIA AGRÍCOLA

GUSTAVO ANDRÉ

Química Agrícola

Química Vegetal

Casa Editorial P. Salvat.
BARCELONA


630
R. 2998

ENCICLOPEDIA AGRÍCOLA

publicada bajo la dirección de G. WERY

Obra premiada por la Academia de Ciencias morales y políticas y por la Sociedad nacional de Agricultura de Francia.

GUSTAVO ANDRÉ

QUÍMICA AGRÍCOLA

QUÍMICA VEGETAL




P. SALVAT
Editor

ENCICLOPEDIA AGRÍCOLA

publicada por una Junta de Ingenieros agrónomos

BAJO LA DIRECCIÓN DE G. WERY

QUÍMICA AGRÍCOLA

QUÍMICA VEGETAL

POR

GUSTAVO ANDRÉ

PROFESOR DEL INSTITUTO NACIONAL AGRONÓMICO
AGREGADO DE LA FACULTAD DE MEDICINA

INTRODUCCIÓN

POR EL

DR. P. REGNARD

Director del Instituto Nacional Agronómico
Miembro de la Sociedad de Agricultura de Francia.

Traducción española de la segunda edición francesa

BARCELONA

CASA EDITORIAL P. SALVAT

39 - CALLE DE MALLORCA - 51

1918

Establecimiento Tipolitográfico de P. Salvat, editor.—Barcelona.

INTRODUCCIÓN

En justicia no me correspondería a mí firmar este prefacio.

Este honor debería recaer en uno de mis dos eminentes predecesores:

En Eugenio Tisserand, a quien debemos considerar como el verdadero creador en Francia de la enseñanza superior de la agricultura: ¿no es él quien, durante largos años, ha influído con todo su valer científico en nuestros gobiernos, y ha conseguido que se creara en París un Instituto agronómico comparable a aquellos de que nuestros vecinos se mostraban orgullosos hacía tiempo?

Eugenio Risler, también, más bien que yo, habría debido presentar al público agrícola sus antiguos alumnos, que han pasado a ser maestros. Unos mil doscientos ingenieros agrónomos, esparcidos por el territorio francés, le deben su instrucción: él es hoy nuestro venerado decano y yo recuerdo siempre con dulce agradecimiento, el día en que debuté bajo sus órdenes y el día, hace poco pasado, en que me designó para ser su sucesor (1).

Pero, ya que los editores de esta colección han querido que fuera el director actual del Instituto agronómico quien presentase a los lectores la nueva *Enciclopedia*, voy a tratar de decir brevemente con qué espíritu ha sido concebida.

(1) Después de haber escrito estas líneas, hemos tenido la desgracia de perder a nuestro eminente maestro Risler, el 6 de agosto de 1905, en Salèves (Suiza). Queremos que conste aquí el vivo dolor que nos causa esta pérdida. Eugenio Risler deja a la ciencia agronómica una obra inmortal.

Ingenieros agrónomos, casi todos profesores de agricultura, todos ellos antiguos alumnos del Instituto nacional agronómico, se han propuesto resumir, en una serie de volúmenes, los conocimientos prácticos absolutamente necesarios hoy para el cultivo racional del suelo. Han escogido, para distribuir, regular y dirigir la tarea de cada uno, a Jorge Wery, a quien tengo la suerte de tener por colaborador y por amigo.

La idea directora de la obra común ha sido la siguiente: extraer de nuestra enseñanza superior la parte inmediatamente utilizable para la explotación de la propiedad rural y dar a conocer a la vez a los agricultores los datos científicos definitivamente adquiridos en que la práctica actual está fundada.

No son simples Manuales, ni Formularios sin razonar, lo que ofrecemos a los agricultores; son cortos Tratados en que se han puesto de manifiesto los resultados innegables, al lado de las bases científicas que han permitido llegar a ellos.

Yo quisiera que se pudiese decir que representan el verdadero espíritu de nuestro Instituto, con la restricción de que no deben ni pueden contener las discusiones, los errores en las vías, las rectificaciones que han acabado de fijar la verdad tal cual es, cosas todas ellas que se desarrollan largamente en nuestra enseñanza, porque no debemos formar sólo prácticos, sino también inteligencias elevadas, capaces de hacer progresar la ciencia en el laboratorio y en el campo de cultivo.

Aconsejo, pues, la lectura de estos pequeños volúmenes a nuestros antiguos alumnos, que encontrarán en ellos la huella de su primera educación agrícola.

También la aconsejo a sus jóvenes compañeros de hoy, que encontrarán en ellos, condensadas en poco espacio, muchas nociones que podrán servirles en sus estudios.

En fin, al gran público agrícola, a los cultivadores, los ofrezco esperanzado. Ellos nos dirán, después de haberlos leído, si, como se ha pretendido alguna vez, la enseñanza superior agronómica excluye todo espíritu práctico. Espero que esta censura, ya gastada, desaparecerá definitivamente.

Por otra parte, nunca ha sido acogida por nuestros rivales de Inglaterra y de Alemania, que han desarrollado magníficamente en sus países la enseñanza superior de la agricultura.

Sucesivamente, ofrecemos al lector volúmenes que tratan del suelo y de la manera como debe ser trabajado, de su naturaleza química, del modo de corregirla o de completarla, de las plantas comestibles o industriales que se le pueden hacer producir, de los animales que puede alimentar y de los que le perjudican.

Estudiamos las manipulaciones y las transformaciones que la industria hace sufrir a los productos de la tierra: la vinificación, la destilería, la panificación, la fabricación del azúcar, de la manteca, del queso.

Terminamos ocupándonos en las leyes sociales que rigen la propiedad y la explotación de las fincas rústicas.

Tenemos la firme esperanza de que los agricultores acogerán favorablemente la obra que les ofrecemos.

Dr. PABLO REGNARD,
Miembro de la Sociedad Nacional de Agricultura de Francia, Director del Instituto Nacional Agronómico.

PREFACIO

De todas las partes de la ciencia química no hay otra que ofrezca mayor interés que la química agrícola. Se la podría definir de la siguiente manera: el conocimiento de los fenómenos de orden químico que rigen la evolución de una planta desde el principio de su germinación hasta el fin de su existencia, caracterizado por la maduración de sus frutos o de sus órganos de reserva.

Este estudio se refiere no solamente a las cuestiones más esenciales de la nutrición y de la producción animales, sino que se relaciona además de un modo particular con gran número de industrias: especialmente las del azúcar, de la fécula, del alcohol y de las materias grasas.

Desde un punto de vista más elevado aborda un problema de gran importancia: el problema de la vida misma. A medida que se desarrollan los estudios de fisiología general, sorprenden cada vez más las notables analogías que presentan, respecto de su nutrición y de su evolución, la célula animal y la célula vegetal.

El vegetal que se desarrolla debe encontrar en el medio que le rodea los elementos indispensables para la construcción de sus órganos: por esto el estudio de la química agrícola comprende forzosamente el del suelo y el de la atmósfera gaseosa de donde toma el vegetal ciertas materias indispensables para su crecimiento.

La química de la planta es, pues, inseparable de la química del suelo y de la química de la atmósfera.

Cuando se trata, ya de mejorar el rendimiento de una

planta, ya de implantar en un terreno un cultivo determinado, nos esforzamos en modificar la naturaleza de los elementos que el vegetal encuentra en el suelo, o en poner a su disposición alguno de estos elementos indispensables que el suelo no contiene o qué contiene en cantidades demasiado pequeñas. Pero, esto exige un profundo conocimiento del suelo desde el punto de vista de sus cualidades físicas y químicas y, como consecuencia, la determinación tan exacta como sea posible de la *forma* de los elementos con que podemos contar.

La química agrícola comprende, pues, en realidad, dos estudios paralelos: el de la planta y el del *depósito* de donde toma ella las substancias que han de formar sus tejidos.

Nuestros *Elementos de química agrícola* comprenderán dos partes. En el presente volumen no se tratará más que de la química de la planta: un segundo volumen, que está en preparación, comprenderá el estudio físico y químico del suelo, así como el de la atmósfera.

He aquí el orden que hemos creído deber adoptar:

Después de haber definido muy sumariamente, en un primer capítulo, la naturaleza y la extensión de los problemas que suscita el estudio químico de los vegetales — lo que nos permite referirnos a las nuevas ideas relativas a los fenómenos osmóticos y diastásicos, — exponemos una reseña analítica de los grandes fenómenos de la vegetación, principiando por el que distingue esencialmente el animal del vegetal: la asimilación clorofiliana.

Esta asimilación está caracterizada por la fijación, en la planta, del carbono y de los elementos del agua, con formación de substancias ternarias.

En el capítulo siguiente exponemos sucintamente lo que son estas substancias ternarias, a fin de conocer la infinita variedad de principios inmediatos que derivan más o menos directamente de la asimilación del carbono.

Una vez definidas estas substancias, procedemos al estudio de la producción de los principios nitrogenados, es decir, cuaternarios, cuya síntesis acompaña siempre a la de las

materias ternarias, y estudiamos brevemente algunos de estos principios, comunes en el vegetal, capaces de desempeñar un importante papel fisiológico o económico.

Conocida así la *armazón orgánica* de la planta, abordamos, en otro capítulo, el estudio de la germinación, fenómeno del mayor interés, tanto en concepto teórico como práctico, ya que de las condiciones de su éxito depende en gran parte la vida futura de la planta.

La respiración, fenómeno común a los vegetales y a los animales, constituye el tema de un capítulo especial y completa el conjunto de lo que se podría llamar el conocimiento íntimo del funcionamiento de la trama orgánica de una planta.

Pero, ésta comprende además otros elementos: contiene siempre, en efecto, materias *fijas,* que toma del suelo mediante sus raíces, mientras que sus órganos aéreos trabajan en la síntesis de las materias ternarias y cuaternarias.

En dos capítulos especiales examinamos la naturaleza de las substancias salinas que la planta contiene, su distribución en los diversos órganos, su modo de combinarse y su significación fisiológica. La elaboración de la materia mineral se efectúa a la par con la producción de la materia orgánica, y las relaciones que existen entre la formación de los elementos combustibles y el ascenso en el vegetal de los elementos minerales son tan íntimas que es imposible concebir cómo podría desarrollarse una planta si uno de los dos sistemas llegase a faltarle.

El agua desempeña en el mundo organizado un papel preponderante: por esto, en un capítulo titulado *Papel del agua en el vegetal,* examinamos la distribución de este elemento en los diferentes períodos de la vegetación, la manera como se efectúa el ascenso de este líquido en la planta y su eliminación en forma gaseosa, es decir, la *transpiración.* Este fenómeno, capital en la evolución de la planta, es el regulador por excelencia de todos los actos biológicos que se refieren a la síntesis orgánica y a la nutrición mineral.

Por fin, en el último capítulo, que es, en cierto modo, el resumen de las nociones anteriormente adquiridas, presenta-

mos un cuadro comparativo de los fenómenos de crecimiento y de maduración: dicho en otros términos, estudiamos por qué mecanismo los fenómenos sintéticos de nutrición contribuyen al crecimiento del vegetal, a la formación de sus semillas y de sus órganos de reserva, que son la razón de ser de su existencia.

Esta obra, esencialmente elemental, podrá prestar algún servicio a todos aquellos que no se contentan con nociones superficiales, sino que tratan de ahondar más en el conocimiento de los procesos íntimos de la nutrición vegetal. Hemos procurado, siempre que ha sido posible, pero sin entrar, con todo, en consideraciones exclusivamente teóricas, dar las explicaciones más plausibles respecto de los fenómenos especiales de síntesis que se realizan en las plantas y hacer resaltar algunas relaciones generales relativas a la evolución vegetal. Desgraciadamente, si algunas de estas explicaciones pueden ser formuladas de una manera casi categórica, muchas otras exigen que se hagan sobre ellas toda clase de salvedades: porque, necesario es confesarlo, nuestros conocimientos sobre la nutrición celular son todavía extremadamente imperfectos.

No nos excusamos por adelantado de las omisiones — y probablemente también de las inexactitudes involuntarias — que contienen las siguientes páginas, y agradeceremos a los que se dignen leerlas nos señalen los errores o las omisiones que contengan.

Permítasenos, al terminar este corto preámbulo, dar las más efusivas gracias a nuestro colaborador y amigo E. Demoussy, por habernos suministrado diferentes veces preciosas indicaciones y por haberse tomado la pena de examinar con el mayor cuidado las pruebas de este pequeño libro.

Gustavo André.

2 de septiembre de 1908.

PREFACIO DE LA SEGUNDA EDICIÓN

La ciencia progresa de una manera continua. El descubrimiento de nuevos hechos y la crítica cada vez más severa de los que consideramos que forman la base de nuestros conocimientos, obligan a un autor a modificar incesantemente las páginas escritas algunos años antes.

La química vegetal no se escapa de esta evolución: por esto ha sido indispensable someter este pequeño volumen a una revisión meticulosa. El plan general que habíamos adoptado en la primera edición no ha sido alterado. Nos hemos limitado a intercalar donde correspondía los experimentos o las teorías más importantes que se han dado a conocer desde hace cinco años.

Las principales adiciones que hemos hecho son relativas al estudio químico de la clorofila; al de la respiración, que recientes trabajos han transformado completamente; al de la selección mineral; al de la transpiración. Además, no hay un solo capítulo que no contenga algunos datos nuevos. La obra conserva, sin embargo, su caráter elemental.

Es para nosotros un deber, que cumplimos con mucho gusto, expresar nuestro vivo agradecimiento a todos los que se han interesado por esta obra y cuyos benévolos consejos nunca nos han faltado cuando se ha tratado de perfeccionarla. Reciba aquí, en particular, nuestro amigo y colaborador E. Demoussy la expresión de toda nuestra gratitud.

12 de mayo de 1914.

PREFACIO DE LA EDICIÓN ESPAÑOLA

Entre las ramas de la Química aplicada, una de las más útiles e interesantes es la QUÍMICA VEGETAL AGRÍCOLA. Esta ciencia ha hecho modernamente grandes adelantos y ha resuelto problemas de gran interés práctico y teórico.

Los grandes y rápidos progresos de la Química vegetal han complicado su estudio al ampliar su campo de acción, que es hoy tan vasto como variado. Hacía falta una obra que supiese presentar de un modo sintético, claro y ordenado el conjunto de conocimientos actuales referentes a las relaciones de la Química con la planta en concepto agrícola, y el sabio profesor del Instituto agronómico Gustavo André ha llenado el vacío con la preciosa obra que, traducida en castellano, ofrecemos hoy a nuestros lectores.

Este libro, junto con la *Química del suelo* del mismo autor y de la misma *Enciclopedia*, constituyen un excelente compendio de los más recientes conocimientos sólidos de la Química agrícola, y no dudamos de que serán ambos volúmenes bien acogidos, como se merecen por su indiscutible mérito y su gran utilidad.

Dr. CASIMIRO BRUGUÉS.

Barcelona, enero de 1918.

QUÍMICA VEGETAL

CAPÍTULO PRIMERO

ELEMENTOS CONSTITUYENTES DE LA MATERIA VEGETAL

Origen de las substancias de que se compone el vegetal.—Nutrición vegetal en general.—Condiciones generales de la nutrición vegetal.—Substancias cristaloides, substancias coloides.—Osmosis, presión osmótica.—Fenómenos diastásicos.

I

¿CUÁLES SON LOS ELEMENTOS DE LA MATERIA VEGETAL?

Si arrancamos del suelo un vegetal ya bien desarrollado (trigo, maíz, etc.), y si, después de haber hecho desprender la tierra adherida a sus raíces, lo pesamos y lo guardamos algún tiempo, observaremos que poco a poco pierde su rigidez y se seca. Si más tarde pesamos el vegetal veremos que ha perdido de peso: la materia que la planta ha perdido no es más que agua. Pongamos luego este mismo vegetal en una estufa calentada a 100° y, al cabo de algunas horas, volvamos a pesarlo; notaremos que su peso ha disminuído nuevamente. Mediante un aparato a propósito podemos recoger la materia que pierde la planta calentada a 100°; examinándola reconoceremos en ella todos los caracteres propios del agua. Cualquiera que sea el órgano sometido a este tratamiento, raíz, tallo, hoja, fruto, semilla, el anterior ensayo siempre da el mismo resultado *cualitativo*. Sin embargo, la *cantidad*

de agua perdida varía enormemente con la naturaleza del órgano, su edad y las condiciones en que se encuentra. Así, algunas semillas pierden sólo de 6 a 7 por 100 de su peso inicial cuando se calientan a 100°; una planta carnosa *(Messembrianthemum)* perderá de 95 a 96 por 100 de su peso en las mismas condiciones. El agua es, pues, una materia que está íntimamente relacionada con la vida vegetal, si bien que existe en la planta en proporciones muy variables.

Saquemos ahora de la estufa la planta que hemos desecado en ella, pesémosla y, después de haberla dividido en menudos fragmentos, introduzcámosla en una vasija metálica que podamos calentar a una elevada temperatura. Por la acción del calor, primero sus tejidos se ennegrecen; se desprenden gases que se inflaman. Finalmente no queda en la vasija más que un montoncito de una materia blanquecina: son las *cenizas*. Según sea la naturaleza de la planta sometida a este tratamiento, según sea el órgano sujeto a la acción del calor, desaparece así, a lo menos en la mayoría de los casos, de 85 a 95 por 100 de la materia seca.

Cualquiera que sea la planta que expongamos a una elevada temperatura, y cualquiera que sea el órgano, *siempre* queda cierta cantidad de materia que no desaparece por la acción del calor. Esta materia fija está compuesta de *elementos minerales*, variables desde el punto de vista cualitativo. Pero, *algunos de ellos se encuentran siempre*, si bien que sus proporciones varían de una planta a otra, de un órgano a otro y, aun en el mismo órgano, de un período de su desarrollo a otro.

La presencia constante de las cenizas no implica, *a priori*, su necesidad respecto del desarrollo de una planta. Sin embargo, veremos más adelante que ciertas substancias minerales — siempre las mismas — son indispensables para el crecimiento del vegetal.

Acabamos de decir que la acción de una temperatura elevada, aplicada a la materia vegetal, destruye ésta con formación de gases. ¿De qué substancias está formada *esta parte combustible* del vegetal? De carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Los gases que se desprenden durante la incine-

ración están formados principalmente por ácido carbónico, vapor de agua, nitrógeno y amoníaco.

Así, pues, el vegetal contiene, además de una gran proporción de agua, elementos que la aplicación del calor hace desaparecer por combustión, y elementos minerales *fijos*. Si suponemos que el vegetal que hemos sometido al examen precedente contiene 10 por 100 de materia seca (materia obtenida desecando la planta a 100°) y que ésta a su vez contiene 10 por 100 de *materia fija* o *cenizas*, veremos que estas cenizas sólo representan la centésima parte del vegetal fresco.

II

ORIGEN DE LAS SUBSTANCIAS DE QUE SE COMPONE EL VEGETAL

Después de haber reconocido en una planta la existencia de tres clases de elementos fundamentales, agua, materia combustible y materia mineral, busquemos cuál es el *origen* de estos elementos. La planta toma el agua de que están impregnados sus tejidos principalmente del suelo, donde penetran sus raíces. Es fácil observar que, cuando el suelo es demasiado seco, la planta se marchita, se inclina hacia tierra y sus tejidos pierden su rigidez habitual. Si se humedece suficientemente el suelo, la planta recobra su estado normal; ha absorbido, pues, una parte del agua que se ha puesto en contacto con sus raíces. La planta toma también agua, en forma de vapor, de la atmósfera que la rodea.

La materia *combustible* de la planta, la que desaparece por la acción del calor, según hemos dicho antes, procede en gran parte, si no en totalidad, del aire ambiente. Aclaremos este punto. Cuando ha terminado la germinación de la semilla, la plantita, nacida de ésta, crece sobre el suelo y extiende en la atmósfera sus hojas verdes. Toda planta que tenga este color verde, que parece ser una cualidad casi exclusiva de los seres pertenecientes al reino vegetal, es capaz, cuando está

iluminada por la luz solar, de descomponer el gas carbónico que contiene siempre la atmósfera terrestre y de retener el carbono. Con este carbono, unido a los elementos del agua, procede en el interior de sus tejidos a la síntesis de las materias azucaradas, de la fécula y de la celulosa. Estas substancias reciben el nombre de *ternarias,* porque contienen tres cuerpos simples: el *carbono,* el *hidrógeno* y el *oxígeno.* Solamente algunos vegetales (leguminosas, algas verdes) son capaces de tomar del aire atmosférico nitrógeno gaseoso. La unión de este nitrógeno con las materias ternarias engendra las *materias cuaternarias* (albúminas, caseína vegetal, gluten, etc.). Así, las materias ternarias y las cuaternarias forman la parte *combustible* del vegetal, y ciertos gases del aire, el ácido carbónico y el nitrógeno, son su fuente.

Muy diferente es lo que ocurre en los vegetales que carecen de color verde (hongos, plantas parásitas, mohos, etc.). Éstos no pueden utilizar los gases atmosféricos para su nutrición: no se desarrollan más que a expensas de ciertas substancias orgánicas con las cuales se ponen en contacto.

La materia *fija* que forma parte del cuerpo de la planta (cenizas), procede únicamente del suelo. Su composición *cualitativa* es casi siempre la misma. Se encuentran en ella *fósforo* (en estado de fosfatos), *potasio, calcio, magnesio, hierro, sodio, manganeso, silicio, cloro* y *azufre.* La acción del calor, necesaria para incinerar la materia vegetal, cambia completamente la naturaleza de las combinaciones salinas que preexisten en la planta. Encontramos, por ejemplo, en las cenizas, carbonatos de potasio, de calcio y de magnesio; pero, en la planta estos metales no estaban unidos con el ácido carbónico (exceptuando parte del calcio). Se encuentran en ella en estado de oxalatos, de citratos, de malatos, y estas sales se convierten, por la influencia de la elevada temperatura necesaria para la destrucción de la materia orgánica, en los carbonatos de los metales citados.

El análisis de las cenizas nos informa, pues, acerca de la *calidad* de los cuerpos simples metálicos que contiene el vegetal, pero no nos indica la *naturaleza de los compuestos* en que entran estos cuerpos simples.

Existe un elemento, el nitrógeno, que generalmente procede del suelo, y que, sin embargo, no se halla en las cenizas de las plantas a causa de la alta temperatura a que se ha sometido el vegetal durante la incineración (1). Todas las plantas que no pueden vivir a expensas del nitrógeno gaseoso solo, que son la mayoría, encuentran y absorben en el suelo nitrógeno combinado en forma de *nitratos*, a veces de *sales amoniacales* y a veces en la forma muy compleja y mal definida de *nitrógeno orgánico*, tal como existe en la materia húmica. La fuente del nitrógeno, elemento fundamental, debe buscarse, pues, en el suelo, respecto de la mayor parte de los vegetales.

Así, parece que sólo un corto número de cuerpos simples son indispensables para la vida vegetal; unos proceden de la atmósfera, otros del suelo. La composición centesimal de las cenizas presenta a veces variaciones notables, según sea el vegetal considerado; pero los cuerpos simples que hemos citado antes nunca faltan en ellas.

III

NUTRICIÓN VEGETAL EN GENERAL. FENÓMENOS DE SÍNTESIS

Según lo que precede, la planta verde se nos presenta como un ser capaz de vivir y de desarrollarse a expensas de un gas que es un desecho del organismo animal, el gas carbónico. En efecto, este gas es el último término de todas las combustiones: ya se hayan efectuado éstas a la elevada temperatura de los hornos, ya se efectúen a una temperatura mucho más baja, como ocurre en los fenómenos de respi-

(1) La incineración de las materias de origen vegetal no es siempre operación fácil cuando se quiere que sea completa y sin pérdidas, puesto que debe evitarse que quede carbón o substancias carbonosas sin quemar y a la vez que no se pierdan cenizas por arrastre por corrientes de aire o por volatilización. La manera de efectuar esta operación puede verse en las obras de *Análisis químico cuantitativo*.—Dr. C. Brugués.

ración, de fermentación o de putrefacción. La planta es, pues, un poderoso aparato de *síntesis,* porque, bajo la influencia de la luz solar, su materia verde absorbe rayos de cierta refrangibilidad y la energía luminosa, una vez absorbida, reaparece en forma de energía química: ésta engendra las materias ternarias de que antes hemos hablado. Se trata aquí de un *fenómeno endotérmico*, esto es, *efectuado con absorción de calor,* que corresponde a la separación del carbono y el oxígeno, que estaban unidos en el gas carbónico.

Pero, como observa Berthelot, la energía luminosa absorbida durante una reacción química no es consumida en totalidad por el trabajo químico: de ordinario existe, a la vez, un calentamiento. Además, una parte de la luz reaparece en forma de rayos de distinta refrangibilidad. La energía luminosa experimenta, simultáneamente, muchas transformaciones distintas y no se transforma simplemente en energía química. Cada una de las diversas radiaciones que presenta el espectro solar produce un determinado efecto químico: la descomposición del gas carbónico en las partes verdes de los vegetales es provocada por la parte menos refrangible del espectro, mientras que la descomposición química del cloruro argéntico se efectúa por la acción de los rayos más refrangibles.

En realidad, la planta verde no posee ella sola el poder de separar los elementos del gas carbónico; ciertas bacterias, estudiadas en los últimos años, gozan de la misma propiedad, aun cuando no contengan materia verde. Pero, la acción de estas bacterias es insignificante comparada con la de las innumerables superficies verdes que están esparcidas en nuestro globo. La planta purifica, pues, continuamente la atmósfera, en la cual el gas carbónico se iría acumulando por efecto de los incesantes fenómenos de las más variadas combustiones. La hulla, formada en una antigua época por restos de vegetales de gigantescas dimensiones, no es más que el resultado de esta combustión, debida a la materia verde, del gas carbónico, cuando este gas existía probablemente en la atmósfera en cantidades mucho mayores que en la época actual. Parece, pues, que se puede oponer la vida vegetal, procedente de la síntesis, a la vida animal, que, para mantenerse, destruye por combustión los alimentos acumulados por la planta, gracias a la facultad que ésta posee de elaborar gran número de materias ternarias y cuaternarias. Sin duda esta antítesis es real, teniendo en cuenta que los animales son destructores de materia orgánica y que esta destrucción es en ellos la fuente del calor y de la energía.

Fenómenos de desasimilación en la planta. Síntesis en los animales.—El papel esencial de la planta verde

consiste, pues, en tomar del medio en que se halla elementos que se encuentran en él en estado de indiferencia química: agua, ácido carbónico, sales minerales, elementos que, respecto de los animales, no son más que productos de desecho o de desasimilación. Y, sin embargo, como ha dicho Cl. Bernard (1), «la fisiología general, que no considera la vida más que en sus fenómenos esenciales y generales, no nos permite admitir una dualidad de animales y vegetales, una fisiología animal y una fisiología vegetal distintas. No hay más que una manera de vivir, no hay más que una sola fisiología para todos los seres vivos: la fisiología general que establece la unidad vital en los dos reinos».

Efectivamente, al lado de los fenómenos de síntesis que nos ofrece la planta verde, es fácil observar fenómenos de destrucción y de combustión.

Todo vegetal, aun cuando esté provisto de materia verde, respira, cosa fácil de demostrar en una planta mantenida en la obscuridad. Esta planta pierde, pues, una parte de su peso. Las semillas conservadas en montones despiden grandes cantidades de gas carbónico, sobre todo si están húmedas, y un termómetro introducido en la masa indica cierta elevación de temperatura. Cuando la semilla germina, subministra una parte de sus reservas al embrión a fin de que éste pueda desarrollarse; otra parte desaparece por combustión respiratoria, y el peso total que al principio tenía la semilla *disminuye* mientras el embrión carece de hojas verdes. La remolacha azucarera, en el primer año de su vegetación, acumula en su raíz el azúcar que sus hojas han elaborado a expensas del gas carbónico del aire. Pero, durante el segundo año, consume la planta una parte de este azúcar para florecer y fructificar. Bastan estos dos ejemplos para demostrar que los fenómenos de destrucción y de combustión se efectúan en la planta al lado de fenómenos de síntesis propiamente dicha.

Por otra parte, cuando el herbívoro absorbe en su alimentación las materias ternarias llamadas *hidratos de carbono* (azúcar, féculas, celulosa) que le ofrece en abundancia el reino vegetal, no hay duda de que destruye cierta cantidad de ellas por combustión respiratoria. Éste es uno de los orígenes del calor animal. Pero también transforma una importante fracción en *grasa*. La transformación del azúcar en grasa constituye un *fenómeno de síntesis*. Cuando el animal absorbe una materia grasa cualquiera (sebo, aceite), ésta

(1) Cl. Bernard, *Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux végétaux et aux animaux*, tomo I, pág. 148, París, 1878.

puede almacenarse en su organismo en estado de grasa; pero, casi siempre experimenta profundos cambios: de donde resulta que se forma un depósito, no de la grasa inicial tal como fué ingerida, sino de una nueva materia grasa propia de la especie animal considerada. Aquí también se ha efectuado un fenómeno de síntesis.

Se puede seguir el camino recorrido por una materia cuaternaria de origen vegetal que ha entrado en el aparato digestivo de un herbívoro. Los jugos gástrico y pancreático solubilizan á esta materia cuaternaria y los productos de esta solubilización, circulando en el organismo, se depositan en tal o cual sitio, no regenerando la materia cuaternaria inicial que ha servido de alimento, sino formando una nueva materia cuaternaria. También aquí puede afirmarse que ha habido realmente síntesis.

La hemoglobina nos suministra un nuevo ejemplo. Esta materia colorante de la sangre, destinada a la fijación del oxígeno, contiene cinco cuerpos simples: es una substancia cuaternaria combinada con el hierro. No se encuentra nunca en el reino vegetal: el organismo animal la elabora de por sí.

Abderhalden demostró (1912) que los animales pueden permanecer sanos, conservar su peso y mantener su equilibrio nitrogenado cuando se les alimenta con productos de hidrolisis avanzada de los albuminoides. Los ácidos amínicos ingeridos son utilizados; no se les encuentra en la orina. Las grasas pueden ser reemplazadas por sus productos de hidrolisis: el animal puede, pues, efectuar la síntesis de todos sus componentes normales a expensas de substancias más sencillas.

En resumen, existen fenómenos sintéticos en los animales como en las plantas, y la opinión de Cl. Bernard antes expuesta está plenamente justificada.

Modo de nutrición de ciertos vegetales inferiores.— Por otra parte, es posible que algunos vegetales inferiores, como las mucedíneas, sean capaces de nutrirse directamente a expensas de compuestos de carbono muy sencillos, como los aldehidos (por ejemplo, el aldehido etílico). Una mucedínea microscópica, la *Eurotyopsis Gayoni*, se encuentra en este caso. Desdobla por medio de sus diastasas (véase más adelante el significado de esta palabra) el azúcar que se le ofrece como alimento y lo convierte en la forma aldehídica. La mucedínea elabora este aldehido utilizándolo para su desarrollo, del mismo modo que las plantas superiores transforman en hidratos de carbono condensados el aldehido metílico que las células clorofilianas producen a expensas del gas carbónico del aire.

El punto de partida de la nutrición sería, pues, el mismo en las plantas verdes que en las plantas desprovistas de clorofila. Esta es una nueva noción que Duclaux ha puesto en evidencia.

Resulta de esto que los vegetales inferiores de que acabamos de hablar serían, según este modo de ver, agentes de síntesis como la

misma clorofila. Así, no existiría, en este concepto, ninguna línea divisoria bien marcada entre los vegetales dotados de clorofila y los que carecen de ella.

IV

CONDICIONES GENERALES DE LA NUTRICIÓN VEGETAL

La célula es la base de la organización vegetal. Vista al microscopio se presenta como una superficie poliédrica formada por una membrana exterior constituída por un cuerpo ternario, la *celulosa*. En el interior de estas membranas se encuentra la verdadera materia viviente, el *protoplasma*, de consistencia gelatinosa y no elástica. En la composición del protoplasma entran cuatro cuerpos simples: el carbono, el hidrógeno, el oxígeno y el nitrógeno; se encuentra también en él siempre un poco de azufre. En la célula que ha cesado de crecer, el protoplasma forma un revestimiento que se aplica a la membrana celulósica y cuya película exterior recibe el nombre de *membrana albuminoide* del protoplasma. Esta membrana tiene extremada importancia: a su mayor o menor permeabilidad se debe el hecho de que los líquidos procedentes del exterior penetren o no en la célula. En el protoplasma, frecuentemente existen *vacúolas* que contiene el *jugo celular*, líquido de reacción ácida que contiene, en disolución o en suspensión, gran número de substancias: sales minerales, azúcares, etc. Por último, en un punto u otro del protoplasma se halla un corpúsculo redondeado, más refringente que el protoplasma, el *núcleo*, que es capaz de absorber con energía ciertas materias colorantes. El protoplasma y el núcleo son los elementos vivientes esenciales de la célula.

El protoplasma puede ser un *productor de substancias*, cosa que ocurre cuando contiene gránulos verdes de clorofila. Esta descompone el gas carbónico atmosférico, y el protoplasma se enriquece en azúcar o en fécula. Los demás elementos de su substancia los toma del suelo (nitratos, fosfatos, etc.), y luego los transforma y los hace

pasar del *estado mineral* al *estado orgánico*. Así es como se realiza, por medio del nitrógeno de los nitratos y de los cuerpos ternarios producidos por la materia verde, la síntesis de las materias cuaternarias o nitrogenadas. También el fósforo de los fosfatos entra en reacción para originar principios complejos (nucleínas, lecitinas) repartidos en las células que están en vías de desarrollo.

Cuando el protoplasma no contiene materia verde (en los hongos, por ejemplo), las substancias orgánicas que él no puede por sí mismo elaborar han de llegarle del exterior, lo mismo que las substancias nitrogenadas y minerales.

Al lado de los fenómenos de la asimilación existen los fenómenos opuestos de la *desasimilación*. El oxígeno del aire interviene quemando una parte de las materias almacenadas, y sale de la célula ácido carbónico. Sin embargo, la intervención del oxígeno no es absolutamente necesaria para que se forme esta última substancia de desecho: ciertas substancias, desdoblándose, pueden originar este gas, así como otros productos; esto es lo que se observa en la respiración *intramolecular* (véase más adelante).

Mientras que en el animal los productos de desasimilación son expulsados al exterior (urea, fosfatos y sulfatos en la orina, ácidos biliares en las materias fecales), la cosa no es tan clara en el vegetal. El único producto constante de excreción común con los animales es el ácido carbónico. Ciertas materias, como la asparagina, cuerpo cuaternario procedente de la descomposición de las substancias nitrogenadas llamadas *albuminoides,* se almacenan durante algún tiempo y después la planta las utiliza para la formación de nuevos albuminoides. La asparagina se acumula en la semilla germinada en la obscuridad y parece entonces que no es más que un producto excrementicial; pero, después entra de nuevo en el ciclo vital cuando la planta joven está expuesta a la luz. La asparagina no tiene, pues, más que una existencia temporal, debido a circunstancias desfavorables a su utilización.

Absorción por la célula.—Toda célula debe poderse *nutrir,* esto es, absorber los elementos procedentes del exterior. Inversamente, la célula se libra de ciertas materias gaseosas o disueltas: de donde deriva una doble corriente, del exterior al interior y recíprocamente. No todas las células tienen las mismas necesidades; las que no contienen materia verde pueden prescindir de la presencia del gas carbónico; pero, en cambio, es necesario que reciban del exterior substancias especiales que ellas no son capaces de formar. Además, la célula posee un *poder electivo* que ejerce respecto de las materias que se le ofrecen y, aun cuando éstas

se hallen en iguales proporciones en el medio ambiente, la célula se apodera con preferencia de tal o cual de estas materias y rehusa absorber las demás, unas veces del todo y otras en parte. De todos modos, las materias indispensables para la nutrición no son las únicas que penetran en la célula; también pueden introducirse en ella otras substancias cuya utilidad es nula o mal conocida.

Siendo el agua, más o menos cargada de los gases de la atmósfera, el disolvente casi universal de las substancias útiles a la planta, conviene ahora examinar lo que recibe el nombre de *disoluciones*, así como la manera como éstas entran en la célula.

V

DISOLUCIONES.—SUBSTANCIAS CRISTALOIDES. SUBSTANCIAS COLOIDES

Cuando se echa un poco de azúcar o de sal común en el agua, estos cuerpos sólidos desaparecen al cabo de algunos minutos; el medio se vuelve homogéneo: se dice que el cuerpo sólido se ha *disuelto*. Una disolución debe ser considerada como una *mezcla física homogénea* de dos substancias: siendo el *disolvente* la substancia que está en mayor proporción en la mezcla y el otro el *cuerpo disuelto*.

La palabra *disolución* debe extenderse al caso en que, habiéndose puesto dos líquidos en contacto, se observa una homogeneidad perfecta en la masa (agua y alcohol). Lo mismo ocurre cuando se dirige una corriente de gas amoníaco al agua; el gas desaparece, el medio es homogéneo. Hasta se puede decir que una mezcla de dos o más gases es una disolución: es una *mezcla física homogénea*.

Desde hace tiempo que se admite que, en un gas o en una mezcla de gases contenidos en un recipiente, las moléculas gaseosas están en continuo movimiento, se repelen, chocan contra las paredes del depósito, vuelven hacia atrás y tienden a ocupar un volumen mayor del que disponen: éste sería el origen de la noción de *presión de un gas*. Del mismo modo, en una disolución propiamente dicha, esto es, en un medio formado por un disolvente (por ejemplo, agua) y una substancia disuelta (azúcar, sal), las moléculas del cuerpo disuelto se comportarían del mismo modo que las moléculas gaseosas; como estas últimas estarían aquéllas dotadas de movimiento y ejercerían sobre las paredes del recipiente una *presión* análoga a la que

producen los cuerpos gaseosos. Esta idea nueva y fecunda de presión ejercida por las moléculas disueltas, que debemos a Van t'Hoff, pronto nos permitirá explicar ciertos hechos de penetración de la materia en la célula.

Entremos ahora en el estudio de la noción de difusión.

Si ponemos en un vaso algo alto una solución de sal común, de azúcar, de sulfato de cobre, etc., y si, tomando algunas precauciones, superponemos a esta disolución cierta cantidad de agua pura, la solución que ocupa momentáneamente la parte inferior del vaso, y cuya densidad es mayor que la del agua, se mezclará poco a poco con el líquido que tiene encima, a pesar del efecto contrario de la gravedad. Al cabo de un tiempo variable el líquido total del vaso tendrá una composición *homogénea*, esto es, que volúmenes iguales del líquido, a cualquier altura que se tomen, contendrán la misma cantidad de substancia sólida disuelta. A este fenómeno se da el nombre de *difusión*. Se puede apreciar a simple vista la velocidad con que la solución primitiva, situada en el fondo del vaso, asciende en el agua, valiéndose de una disolución coloreada de sulfato de cobre, de permanganato potásico, etc. Esta velocidad crece con la temperatura y la concentración. En resumen, la substancia sólida tiende a ocupar el mayor volumen posible, como un gas que se introduce en un espacio vacío.

Para todas las substancias capaces de *cristalizar*, la velocidad de difusión es esencialmente variable de una a otra.

Si en el fondo del vaso de que hablamos hemos puesto dos sales, por ejemplo cloruro sódico y sulfato sódico, encontraremos, buscando al cabo de algunos días, cuál es la composición del líquido, que cerca de la superficie contiene más sal común que sulfato sódico.

Hagamos el mismo experimento poniendo en el fondo del vaso una substancia que no pueda cristalizar: solución de goma arábiga, albúmina de la clara de huevo, caramelo, etc.; encontraremos que la ascensión de esta solución al través del agua pura es infinitamente más lenta que en el caso anterior (muchos centenares de veces). Existen, pues, substancias que se difunden fácilmente en el agua, que se mezclan fácilmente

con este líquido, á pesar de la acción contraria de la gravedad, mientras que otras substancias se mueven difícilmente. Las primeras se llaman *substancias cristaloides*, las segundas *substancias coloides*. Esta división es debida a Graham (1861). ¿Existe una línea divisoria bien marcada entre los cristaloides y los coloides, como se ha llamado a estas substancias para abreviar? No, no hay límite absolutamente fijo. Y, por otra parte, no existen cuerpos *coloides* considerados aisladamente, existen *soluciones coloides:* todo depende de la naturaleza del disolvente.

Parece que la difusión de los cristaloides sea debida a sus movimientos moleculares; la difusión de los coloides debe atribuirse a *movimientos brownianos* de que están dotadas sus partículas y sobre cuya existencia diremos algo más adelante. Se da el nombre de *movimiento browniano* (del nombre de Brown, naturalista inglés que lo observó en 1827) al movimiento de que están animadas las partículas sólidas que se encuentren en el seno de una gota de agua observada en el microscopio.

No se deben considerar como *verdaderas disoluciones* más que aquellas que contienen substancias de *difusión rápida*. Las demás son soluciones de una naturaleza particular; deben designarse con un nombre especial, se las ha llamado *seudosoluciones*.

Para demostrar la influencia del disolvente en la naturaleza de la disolución, basta recordar que el tanino, por ejemplo, forma con el ácido acético una verdadera solución, mientras que con el agua forma una seudosolución. Además, esta última siempre es más o menos turbia, difundiéndose una parte de la luz que atraviesa el líquido a la derecha y a la izquierda. En realidad, según han demostrado recientes investigaciones, las seudosoluciones contienen *partículas sólidas* extremadamente pequeñas; las soluciones verdaderas no contienen partículas sólidas. En las últimas no puede distinguirse la substancia disuelta del disolvente; en las primeras, a causa de su falta de homogeneidad, deben tenerse en cuenta el disolvente y las partículas sólidas que se mueven en su masa. Estas partículas son extremadamente diminutas; los cálculos hechos respecto de este punto demuestran que algunas substancias en suspensión coloidal tienen un diámetro medio que se aproxima a la cien milésima de milímetro. Se concibe, pues, que la superficie que presentan en el seno del líquido sea considerable.

Las substancias coloides respecto del agua abundan mucho en

la naturaleza: todos los zumos extraídos de los vegetales contienen. Se ha podido preparar artificialmente gran número de ellas pertenecientes a las más variadas funciones químicas: metales coloides, óxidos, sulfuros, etc.

Un coloide en suspensión en el agua presenta la notable propiedad, que le distingue inmediatamente de un cristaloide, de poderse separar de un modo casi completo del agua, cuando se añaden a la seudosolución *ciertas substancias salinas* o *ácidas*, pero que son siempre *electrolitos*, y cuya cantidad varía con su naturaleza.

Estos electrolitos actúan en cantidades ponderales tan pequeñas, que no guardan relación con la cantidad del coloide que se precipita; el peso del coloide puede ser muchos centenares de veces mayor que el peso del electrolito que ha determinado la precipitación. A este notable fenómeno se le da el nombre de *coagulación*.

La precipitación de las soluciones coloidales depende esencialmente de la reacción del medio. Estas soluciones serían estables si se admite que las partículas o *micelas* (de *mica*, migaja) de que están compuestas están cargadas de electricidad del mismo signo; así se repelerían mutuamente y no tendrían ninguna tendencia a aglomerarse.

Examinado mediante los nuevos procedimientos del ultramicroscopio, un *coágulo* presenta los grumos de que está compuesto formados por partículas del coloide primitivo que se han aproximado unas a otras. Notemos que el coloide que se coagula contiene siempre una pequeña cantidad del agente, salino u otro, que ha servido para precipitarlo.

Por otra parte, una substancia coloide no es estable en el seno del líquido que la contiene en suspensión más que cuando se encuentra en presencia de ciertos cristaloides disueltos en este líquido: se deduce de esto que el líquido y el coloide no son independientes uno de otro. Si se precipita un coloide por medio de una substancia salina y se lava, por ejemplo, con agua, el coágulo así formado, la sal que ha servido para la precipitación no podrá ser separada nunca enteramente. Cierta cantidad de la misma ha sido absorbida por las partículas del coloide de una manera irreversible. A esta absorción, de naturaleza particular, van Bemmelen ha dado el nombre de *adsorción*. También se designa con esta palabra la acción que ejercen los sólidos sobre las soluciones cuya concentración se modifica con el contacto inmediato de las superficies de estos sólidos.

El fenómeno de la coagulación permite distinguir, como hemos dicho antes, las substancias coloides de las substancias cristaloides. En efecto, estas últimas no son precipitadas de sus disoluciones más que en casos perfectamente definidos por las leyes de Berthollet. Una solución de cloruro bárico, por ejemplo, da precipitado blanco por la adición de una solución de sulfato sódico; pero la precipitación no es completa más que cuando se emplea, para una molécula de cloruro bárico, una molécula de sulfato sódico. El nitrato potá-

sico, y muchas otras sales, no producirían precipitación alguna en la solución del cloruro bárico.

Las seudosoluciones, por el contrario, no poseen los caracteres de las verdaderas soluciones. No conducen la electricidad. Sabido es que, cuando se disuelve una sal cualquiera en el agua, el punto de solidificación del agua queda siempre disminuído, al mismo tiempo que el punto de ebullición de la disolución es superior al del agua sola. En las seudosoluciones no ocurre nada de esto; su punto de solidificación es sensiblemente el mismo que el del disolvente solo; su punto de ebullición es también el mismo que el del disolvente.

Algunos *hidrosoles* poseen, en realidad, una *presión osmótica* (véase más adelante), pero ésta disminuye más aprisa que la concentración. De todas maneras conviene observar que las comparaciones que pueden hacerse respecto de este punto entre las soluciones *verdaderas* y las seudosoluciones presentan una causa de error: el número de moléculas que están en presencia no es el mismo en los dos casos.

Frecuentemente se emplean, para designar las soluciones coloidales, los términos preconizados en un principio por Graham: así, se habla de un *hidrosol* cuando se trata de la seudosolución acuosa (ejemplo: hidrosol de ácido silícico), y de un *hidrogel* si se trata del cuerpo que acaba de ser precipitado. Análogamente se diría *alcosol* y *alcogel* en el caso de que el líquido inicial fuese el alcohol.

Se distinguen dos grupos de *geles:* los unos son reversibles, es decir, que se convierten en líquidos por una elevación de temperatura (gelatina) y se solidifican nuevamente cuando ésta disminuye; los otros son *irreversibles* (albuminoides).

En la tierra vegetal donde penetran las raíces de las plantas existen soluciones coloidales; es poco probable que estas soluciones se introduzcan en las plantas sin modificarse. Pero, la planta es capaz de formarlas por sí misma, y los fenómenos de coagulación que se efectúan en el interior de la célula tienen como causa posible, ya sea la acción de las *enzimas* o *fermentos solubles,* de que hablaremos más tarde, ya sea la presencia de substancias salinas que producen los efectos antes señalados. Por otra parte, las mismas enzimas no son más que mezclas de substancias coloides (véase, además, á propósito de los *coloides,* la *Química del suelo* de esta misma *Enciclopedia,* cap. VI, pág. 136).

Hemos visto anteriormente que las substancias cristaloides y las coloides puestas en el fondo de un vaso alto lleno de agua, ascendían paulatinamente en el seno de este líquido con velocidades muy desiguales: las primeras suben con una rapidez mucho mayor que las segundas. Se podría, pues, en rigor, *separar por decantación* los cristaloides de los coloides, puesto que éstos permanecen mucho tiempo en la parte inferior del vaso. Este procedimiento no sería fácil de emplear. Graham ha demostrado que esta separación era muchísimo más fácil de llevar a cabo introduciendo la mezcla de

materias cristaloides y coloides en una vasija ancha cuyo fondo está reemplazado por una *membrana* vegetal o animal (papel pergamino, vejiga, etc.) y luego inmergiendo la vasija en un cristalizador lleno de agua pura, de manera que el nivel de los líquidos sea el mismo en el interior y en el exterior. El vaso que lleva la membrana se denomina *dializador* y la separación así efectuada se llama *diálisis*. La *naturaleza* de la membrana desempeña un papel muy importante en la diálisis. En el caso actual, los cristaloides disueltos en la membrana pasan al agua del cristalizador y los coloides no o apenas: esto permite una separación mecánica muy fácil, y a menudo muy perfecta, entre los cuerpos cristalizables y los no cristalizables (véase: *Rôle chimique de la membrane dans les phénomènes osmotiques*, Flusin, Thèse de Paris, 1907).

. **Naturaleza de las disoluciones propiamente dichas.** —Examinemos ahora la naturaleza de las disoluciones propiamente dichas. Tienen éstas una importancia capital para la nutrición de la planta, que las encuentra en el suelo en forma de nitratos, fosfatos, cloruros, sulfatos, etc.

Ciertas substancias en solución verdadera conducen bien la electricidad: las sales, los ácidos, las bases son, según se dice ordinariamente, *electrolitos*. Otras substancias, por el contrario, oponen una resistencia muy grande o infinita al paso de la corriente, como lo hace la misma agua pura: son los *no-electrolitos* (azúcar, urea). Si se somete a la acción de la corriente eléctrica un electrolitro, éste es descompuesto y esta descomposición se llama *electrolisis*. Se denominan *electrodos* las superficies metálicas que, inmergidas en el líquido electrolítico, están en relación con el circuito de la pila. Ciertos elementos de la sal descompuesta se depositan en el anodo (o electrodo positivo), son los *aniones;* los otros van a parar al catodo (o electrodo negativo), son los *cationes*. Pero, cuando se trata de los líquidos coloidales, hay que advertir que en sus partículas la corriente eléctrica produce una acción particular. Entre estos líquidos hay unos cuyas partículas se dirigen hacia el anodo: son los *líquidos negativos;* y otros cuyas particulas se transportan hacia el catodo: son los *líquidos positivos*. Algunos coloides son neutros eléctricamente. El *tamaño* de los gránulos que se dirigen a uno u otro polo es distinto, según sea la reacción del medio: la adición de indicios de álcalis a una suspensión ultramicroscópica, aumenta el tamaño de los gránulos si la solución es positiva, y lo disminuye si la solución es negativa: la adición de indicios de ácidos produce efectos inversos.

Volvamos ahora a las sales propiamente dichas.

Faraday creía que los elementos de la sal disuelta, que se sepa-

ran por la acción de la corriente eléctrica, transportaban la electricidad, y llamaba *iones* a estos productos de la disociación procedentes del paso de la electricidad. Estos iones se dirigen, según su naturaleza, al electrodo negativo (hidrógeno, metales) o al electrodo positivo (cloro, bromo, etc.).

Según una famosa teoría debida a Arrhenius (1887), estos iones existen *preformados* en la misma solución. Una solución de sal común, NaCl, contiene, según su concentración, en cierto modo, tres especies de cuerpos: *moléculas intactas* de NaCl, iones de *cloro* provistos de una carga negativa, iones de *sodio* provistos de una carga positiva. Del mismo modo, una solución de ácido nítrico, NO^3H, contiene moléculas NO^3H no descompuestas, iones negativos NO^3, iones positivos H. El número de iones aumentaría con la dilución; cuanto mayor sería ésta, más moléculas intactas aún de NaCl o de NO^3H se desdoblarían en iones. De manera que, en una dilución infinita, las soluciones de electrolitos estarían completamente desdobladas en sus correspondientes iones.

Antes del paso de la corriente, las soluciones de los electrolitos no poseen propiedades eléctricas, porque la carga de los iones negativos neutraliza exactamente la de los iones positivos.

En resumen, el paso de la corriente eléctrica a través de un electrolito no tendría otro efecto que el de *dirigir* los iones preformados en la solución: los unos hacia el anodo, los otros hacia el catodo. La descomposición de una sal en solución concentrada es total al cabo de cierto tiempo, porque, a medida que los iones se depositan en sus respectivos electrodos, una nueva cantidad de la sal disuelta se disocia en sus iones, los cuales se dirigen hacia el anodo o el catodo, y así sucesivamente.

La objeción que se presenta en seguida a esta manera de considerar la naturaleza de una solución salina es la siguiente: si existiesen verdaderamente cloro y sodio *libres* en una solución acuosa de sal común, estos dos cuerpos deberían manifestar inmediatamente su presencia, ya sea por el olor especial del cloro, ya por el desprendimiento de hidrógeno que produciría el sodio libre en contacto con el agua. Y no ocurre nada de esto. Pero, observemos que el *ion cloro* y el *ion sodio* son entidades muy diferentes del cloro y del sodio, tales como los conocemos. Estos últimos no existen más que en *estado de moléculas,* es decir, en estado de continuación de átomo con átomo: Cl-Cl, Na-Na, estado en el cual estos cuerpos poseen las propiedades que todos conocemos. El ion, por el contrario, puede ser considerado *como el átomo mismo,* incapaz de existir fuera del líquido donde se mueven las moléculas de la sal común. El ion posee una carga eléctrica, positiva o negativa; la molécula no la tiene. Esta explicación no está, ciertamente, sancionada por ningún experimento *directo.* Pero, las anomalías que presentan las soluciones de electrolitos desde el punto de vista de la presión osmótica de que vamos a tratar, así como las que han sido puestas de

manifiesto por las investigaciones crioscópicas y tonométricas — en las que no podemos ocuparnos aquí, — reciben actualmente de los hechos que preceden una explicación muy satisfactoria.

Estos nuevos datos sobre la constitución de las soluciones han encontrado aplicaciones numerosas en fisiología: los iones parecen ser la *parte verdaderamente activa de una solución* (véase más adelante).

Este transporte de los elementos bajo la influencia de la corriente eléctrica no ocurre de la misma manera cuando se trata de soluciones coloidales. Aquí también se manifiesta una profunda diferencia entre las soluciones salinas verdaderas y las seudosoluciones. Estas, sometidas a una corriente de fuerte tensión, muestran un transporte en masa del coloide solamente hacia uno de los polos, positivo o negativo. Un coloide se transporta siempre hacia el mismo polo.

VI

ÓSMOSIS.—PRESIÓN OSMÓTICA

Ahora que conocemos la constitución de las soluciones, busquemos cómo se efectúa su penetración en la célula vegetal. Para pasar del exterior al interior de la célula, la solución encuentra un obstáculo, la *pared celular*. La experiencia enseña que las paredes, o las membranas en general, presentan grados de *porosidad* muy diferentes. Vertamos en un papel de filtro puesto en un embudo una disolución de sal común o de azúcar: la disolución atravesará el filtro sin cambiar de composición. Empleemos una solución de goma, ocurrirá lo mismo. La pared sólida, aquí el papel de filtro, es, pues, *igualmente permeable* para el disolvente (agua) y el cuerpo disuelto (sal común, azúcar, goma),

Dispongamos ahora el siguiente aparato. Tomemos un tubo de vidrio de 1 centímetro de diámetro, ensanchado en una de sus extremidades, y atemos fuertemente en la parte ensanchada una membrana de papel pergamino o un fragmento de vejiga de cerdo. Llenemos el tubo así preparado de una solución de azúcar o de sal hasta cierta altura, e inmerjamos en seguida el tubo en un vaso que contenga agua destilada, de manera que los dos líquidos estén al mismo nivel.

Al cabo de algún tiempo se observará que el nivel del líquido en el interior del tubo ha subido: ha habido, pues, una corriente del exterior hacia el interior. Pero, simultáneamente, existe una corriente inversa, y la substancia disuelta en el agua contenida en el tubo pasa al vaso exterior: hay, pues, *una doble corriente;* la ascensión en el tubo de vidrio indica solamente el resultado de la acción de dos corrientes inversas. El fenómeno que acabamos de exponer se llama *ósmosis;* la corriente principal, la que es más enérgica, se denomina *endósmosis* y la más débil *exósmosis* o *diósmosis*. Frecuentemente se dice más sencillamente que hay *diálisis*, sin indicar el sentido de la corriente. Al cabo de cierto tiempo, el movimiento de ascensión en el tubo acaba por disminuir, luego se detiene y el líquido desciende lentamente. En el momento en que el líquido ha llegado a su máximo de altura, existe un equilibrio entre la fuerza que hace penetrar el agua exterior en el tubo y la gravedad, cuya acción inversa tiende a impedir la entrada del líquido. El aparato que acaba de ser descrito permite, pues, medir, respecto de la solución de un cuerpo dado con una concentración (peso de substancia disuelta en la unidad de volumen) dada, la *fuerza* o la *presión osmótica* de la substancia disuelta. Cuando el líquido contenido en el tubo de nuestro aparato (llamado *endosmómetro)* habrá recobrado su nivel inicial, tendrá la misma composición que el líquido exterior, que primitivamente no era más que agua pura: dicho en otros términos, volúmenes iguales del líquido contenido en el endosmómetro y en el vaso exterior contendrán las mismas cantidades de sal común o de azúcar. Se trata, pues, también aquí de una *difusión*, como en el experimento antes citado: pero, la presencia de una membrana interpuesta entre la solución salina y la solución ha perturbado de momento la marcha del fenómeno.

El papel que la membrana desempeña es capital; según su naturaleza, la membrana dejará pasar más o menos fácilmente la substancia disuelta en el endosmómetro. Volveremos a este punto. Una membrana coloidal (tejido organizado o ferrocianuro de cobre) puede dar paso a un cuerpo líquido

o disuelto por dos caminos diferentes: 1.º, por la substancia misma de las micelas, si el cuerpo puede entrar en combinación con ellas, y la ósmosis se llama *intramolecular* o *intramicelar;* 2.º, por los intervalos que separan las micelas, y la ósmosis se efectúa entonces por vía capilar o *intermicelar* (Pfeffer).

Habríamos podido disponer el experimento de otra manera: poniendo agua sola en el osmómetro y la solución salina en el vaso exterior. Como la corriente que va del agua hacia la solución es la más fuerte, se observa entonces que el nivel del agua contenida en el tubo desciende. En el caso de dos soluciones de la misma concentración, puesta una en el osmómetro y la otra en el vaso exterior, no se establece ninguna corriente. Si se toman dos soluciones de distinta concentración, poniendo la más concentrada en el osmómetro y la otra en el vaso exterior, se establece la corriente del vaso exterior hacia el osmómetro, y el líquido subirá en el tubo. La velocidad de la ascensión del líquido depende de la diferencia de las concentraciones.

Los fenómenos de ósmosis fueron descubiertos y estudiados primeramente por Dutrochet.

Sobre algunas particularidades que presentan los fenómenos osmóticos.—La diferencia de temperatura entre dos líquidos homogéneos de la misma naturaleza, puede originar una corriente osmótica. Así, cuando dos masas de agua pura, la una caliente y la otra fría, están separadas por una membrana porosa, hay endósmosis del agua fría hacia el agua caliente (Lippmann). Esta es una observación importante que a menudo encuentra aplicación en la observación de ciertos fenómenos naturales.

No puede existir movimiento osmótico más que cuando los líquidos son capacez de mezclarse, y es necesario que, a lo menos uno de los líquidos, moje la membrana. Cuando esto se efectúa, el movimiento de endósmosis va de este líquido al otro. Así, cuando el alcohol y el agua están separados por una membrana de caucho, el alcohol pasa al agua. Si los dos líquidos estuviesen separados por una membrana animal, ocurriría lo contrario. La *naturaleza* de la membrana desempeña, pues, un papel capital; el estado de esta membrana debe también ser tenido en cuenta, esto es, su grado de humedad o de desecación, así como los tratamientos que ha sufrido anteriormente.

Hasta ahora hemos examinado el modo como pasa el agua hacia una solución acuosa de sal común, de azúcar, etc., o dicho en otros términos, el caso en que el disolvente del cuerpo sólido es el agua. Los fenómenos osmóticos no tienen la misma intensidad cuando se emplean soluciones diferentes. Señalemos sólo el hecho siguiente: cuando se introduce en el endosmómetro — o simplemente en un vaso ancho cuyo fondo está provisto de una membrana de pergamino (dializador) — una solución acuosa de albúmina, y se hace flotar este dializador en agua pura, la albúmina pasa al exterior con extremada lentitud. Reemplazando el agua pura del vaso exterior por una solución salina, se observa que la albúmina pasa más fácilmente.

Membranas semipermeables

A. **Membranas celulares.** — Todas las membranas de que hemos hablado hasta ahora se dejan atravesar más o menos fácilmente por el agua y las substancias que ésta lleva en disolución. Únicamente varía su grado de permeabilidad: es muy débil respecto de los líquidos coloides, según hemos dicho.

Se puede concebir la existencia de membranas que no dejasen pasar más que el *agua sola* y que se opusiesen de un modo más o menos absoluto al paso de las substancias salinas disueltas en esta agua. Pues bien, estas membranas existen en realidad: todas las células vegetales se encuentran en este caso, a lo menos respecto de ciertas substancias solubles. Pero, no gozan de esta propiedad más que cuando son vivas: la célula muerta se deja atravesar como las membranas hasta aquí examinadas.

Además, se han podido construir artificialmente células o endosmómetros, *permeables al agua sola,* impermeables a las substancias disueltas en el agua. Estas membranas especiales han recibido el nombre de *semi* o *hemipermeables*. El descubrimiento de la hemipermeabilidad de las membranas celulares es debida a de Vries; el de la hemipermeabilidad de ciertas membranas artificiales se debe a Traube y a Pfeffer. Los estudios hechos sobre estas membranas desde hace más de treinta años han ampliado nuestros conocimientos relativamente a las leyes de la ósmosis; han tenido una influencia considerable en el desarrollo de las ideas referentes a la nutrición y a la imbibición de las células en general. Gracias a los experimentos efectuados con las membranas de que tratamos ahora, es como se ha podido definir la razón por la cual existe un *empuje* del agua exterior hacia el líquido interior del osmómetro, empuje que se ha llamado *presión osmótica*. Por último, esta presión osmótica ejercida por una disolución, ha podido ser identificada por van t'Hoff

con la presión que una substancia gaseosa ejerce sobre las paredes del recipiente en que está contenida.

Principiemos por examinar el *caso de la célula vegetal*. En un corte delgado de un tejido vegetal normal (por ejemplo, una hoja), se observa que la capa del protoplasma celular está fuertemente aplicada contra la pared de la célula. Si la planta en la cual se ha hecho el corte está marchita, las células pueden recobrar su primitiva rigidez inmergiendo la planta en el agua. La célula es, pues, permeable al agua, y se llama *turgescencia* el estado particular de tensión que presenta la célula así llena de líquido y en la cual la capa protoplasmática está, como acabamos de decir, aplicada contra la membrana celulósica. Este estado de tensión puede ponerse en evidencia mediante un experimento muy sencillo que consiste en tomar un tubo de vidrio corto y algo ancho, cerrando una de sus extremidades con un trozo de vejiga, llenando el tubo de una solución cualquiera (azúcar, sal), cerrando luego la otra extremidad también con un trozo de vejiga, e inmergiendo este pequeño aparato en un vaso lleno de agua sola. Se ve entonces que las dos membranas, empujadas hacia el agua exterior, se hinchan formando un casquete convexo: lo que indica que cierta cantidad de agua ha penetrado del exterior al interior del tubo. Esto es lo que ocurre en la turgescencia.

La célula vegetal resiste de una manera casi absoluta a la penetración de los coloides y *hasta de los cristaloides:* únicamente puede haber movimiento del agua de fuera a dentro e inversamente.

Si se inmerge un corte reciente de raíz de remolacha, de maíz, etc., en una solución salina cualquiera, pueden ocurrir tres casos. O bien la célula no cambia de aspecto, y entonces existe *equilibrio* entre las presiones ejercidas por los dos líquidos, el del interior de la célula y el exterior; o bien la presión del líquido exterior es inferior a la del líquido interior: la célula se hincha absorbiendo agua y puede desgarrarse; o bien, finalmente, ocurre lo contrario: el poder osmótico de la solución salina es superior al del líquido celular; la turgescencia disminuye, porque una parte del líquido de la célula pasa al exterior. Se ve entonces que la membrana protoplasmática se desprende del vaso celular y se arruga contrayéndose.

De una solución exterior que no provoca ningún cambio en el aspecto de la célula, se dice que está en equilibrio de presión o que es *isotónica* con el jugo celular. La solución es *hipotónica* cuando la célula se hincha, *hipertónica* cuando la membrana protoplasmática se contrae. Cuando cesa la turgescencia en el cuerpo protoplasmático, se dice que hay *plasmolisis* o que la célula está *plasmolizada* (fig. 1).

El poder plasmolítico de diferentes substancias solubles en el agua dista mucho de ser el mismo. A igualdad de concentración, el de la sacarosa es siete veces y media menor que el de la sal común. Para provocar la plasmolisis, las concentraciones de los

líquidos deberán ser tanto mayores cuanto menor sea su poder osmótico. La turgescencia de la célula aumenta con la concentración de los líquidos que ésta contiene: varía con la naturaleza del tejido considerado y con su edad. La turgescencia aumenta, por ejemplo, cuando en una célula, en virtud del hecho de la función de asimilación, se acumula la glucosa a consecuencia de la descomposión del gas carbónico del medio.

Entonces es absorbida cierta cantidad de agua, que determina un aumento de la turgescencia.

La célula puede, pues, modificar la composición del jugo que contiene, fabricar substancias osmóticas nuevas y, en consecuencia, transformar las substancias actuales en otras substancias más osmó-

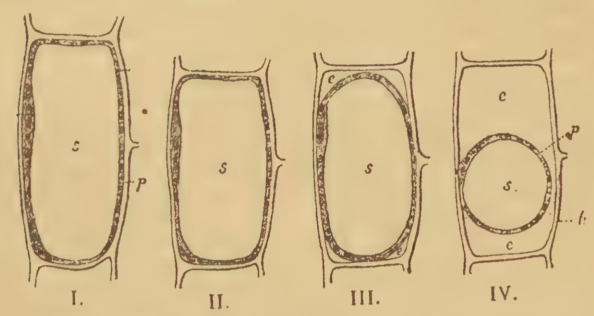


Fig. 1.—Células piasmolizadas, según de Vries; I, en el agua; II, en una solución de nitrato potásico al 4 por 100; III, en una solución al 6 por 100; IV, en una solución al 10 por 100.

ticas: se ha propuesto dar a este fenómeno el nombre de *anatonosis* (Errera, van Rysselberghe). Pfeffer ha sostenido esta variación de la turgescencia atribuíble a metamorfosis de orden químico.

Los cambios que experimentan ciertos cuerpos disueltos en el jugo celular al transformarse en otros menos osmóticos (ácido málico que suministran substancias azucaradas, según A. Mayer), constituyen una de las causas posibles de la disminución del poder osmótico celular. Según de Vries, la presión intracelular debería ser principalmente atribuída a los ácidos vegetales; la presencia de substancias azucaradas no podría explicar, por sí sola, los fenómenos de turgescencia. En efecto, los azúcares poseen un coeficiente isotónico débil y un peso molecular elevado; si fuesen la causa única de las presiones observadas, se les debería encontrar en el interior de la célula en cantidades mucho mayores que las que en realidad se hallan.

Esta opinión parece ser demasiado absoluta: hay casos, como el de la remolacha, en que la presencia de considerables cantidades

de azúcar permite explicar el papel preponderante que desempeña esta substancia en los fenómenos de presión osmótica.

La permeabilidad del protoplasma para el agua es tanto mayor cuanto más caliente es el líquido, y esta permeabilidad es proporcional a la temperatura; se observa aun a la temperatura de 0°. La permeabilidad aumenta también cuando la iluminación se hace más intensa. Por último, una célula cuyo jugo celular es *isotónico* con una disolución determinada, a cierta temperatura, permanece isotónica respecto de la misma solución a cualquier temperatura, con tal que no ocurra ningún cambio que modifique la composición del jugo (van Rysselberghe).

La hemipermeabilidad es un fenómeno relativo. — ¿Es absoluta la hemipermeabilidad de la célula vegetal? ¿No toma ésta de los líquidos exteriores que la mojan más que agua, y no da paso más que a ésta más que cuando se plasmoliza? De ninguna manera. Es probable que una solución que, con una concentración determinada, determinará un principio de plasmolisis, si el tejido considerado es de edad distinta deberá tener otro grado de concentración a fin de que se produzca la plasmolisis. Es necesario, por otra parte, admitir que, para su nutrición, la célula recibe del exterior tales o cuales materiales indispensables a su crecimiento. De todos modos, basta que estos materiales sean puestos *en contacto* con la masa protoplasmática para que progresivamente se efectúen las acciones químicas y biológicas: el jugo celular mismo procede de la elaboración del protoplasma: no es llevado del exterior por un simple fenómeno de filtración.

En realidad, el agua de una disolución no es la sola materia que penetra para regular la turgescencia de la célula, y las substancias cristaloides no se detienen delante de la membrana protoplasmática.

Por lo que toca a la permeabilidad de esta membrana, de Vries, y después van Rysselberghe, han demostrado que el protoplasma es permeable respecto de un gran número de substancias salinas, y muy notablemente respecto de la sacarosa y la glucosa. La permeabilidad es tanto más pronunciada cuanto más concentrado es el medio exterior. Si se diluyen poco a poco las soluciones iniciales que han servido para comprobar el paso de las materias salinas al interior de la célula, en ningún caso se puede poner de manifiesto la existencia de un movimiento inverso de salida, fuera del protoplasma, de las substancias a las cuales éste había dado paso cuando se aumentaba el poder osmótico. El protoplasma de muchas células vivas estaría constituído, según Gaidukov (1910), por un hidrosol complejo que contiene una parte reversible y una parte irreversible. Este complejo estaría protegido por una capa de hidrogel (membrana plasmática) cuyo papel podría compararse al de un coloide protector.

Señalemos la presencia de una *semipermeabilidad relativa* de la cubierta de las semillas de cebada, de trigo, de centeno y de cáñamo.

Según A. J. Brown, esta cubierta constituye una membrana semipermeable: deja pasar, al interior del grano, el agua y el yodo en disolución; pero, se opone a la penetración de los ácidos (sulfúrico y clorhídrico) y a la de las substancias metálicas.

Las variaciones de la permeabilidad del protoplasma respecto de las substancias disueltas, se efectúan en el mismo sentido que cuando se trata del agua sola.

B. **Membranas artificiales.**—Por medio de las membranas semipermeables artificiales es como se han determinado las leyes de la ósmosis y de la presión osmótica. La observación es más fácil y más rigurosa en este caso que cuando se emplean membranas celulares. Se obtiene una pared semipermeable de la siguiente manera. Se toma un vaso poroso de una pila y se impregna de agua para expulsar los gases; se llena luego de una solución de ferrocianuro potásico y se inmerge en un vaso que contenga una solución de sulfato de cobre. Estas dos soluciones avanzan en sentido inverso en el espesor de la pared del vaso poroso en que se encuentran, y producen un precipitado de ferrocianuro de cobre, en capa continua si la materia del vaso es bien homogénea. Esta membrana de ferrocianuro de cobre es *hemipermeable*. Luego se lava el vaso repetidas veces con agua.

Pongamos en este vaso una solución de azúcar, cerrémosle con un buen tapón atravesado por un tubo que servirá de manómetro, luego inmerjamos este vaso *A* en un vaso *B* lleno de agua, teniendo cuidado de que el nivel de los líquidos sea el mismo en el vaso *B* y en el tubo *C*. Al cabo de cierto tiempo, el líquido asciende en el tubo *C*, como en el experimento hecho con el endosmómetro; pero, la diferencia esencial consiste en que, una vez ha ascendido el líquido, no baja (fig. 2).

El azúcar permanece *integralmente* en el vaso *A* y no se mezcla con el líquido contenido en *B*. La presión no es, pues, la misma en *A* que en *B*; en *A* es mayor. Esta presión, que obliga a subir al líquido en el tubo y que le mantiene en él, ha recibido el nombre de *presión osmótica*.

La altura a que sube el líquido en el tubo *C* varía, para una temperatura fija, con la concentración inicial de la solu-

ción azucarada. Si la concentración aumenta, la ascensión será mayor, e inversamente. La presión osmótica se mide por la altura de la columna líquida desde el nivel del agua en el vaso *B*.

Si es exacto que se puedan comparar los movimientos de las moléculas de un cuerpo disuelto con los de las moléculas de los gases y pretender que, en los dos casos, las moléculas ejercen una presión sobre las paredes de los vasos que las contienen, se explicará de la siguiente manera la causa de la presión osmótica.

En efecto, la presión que ejerce una solución sobre una pared sólida es la suma de las presiones ejercidas: 1.°, por las moléculas disueltas del cuerpo sólido; 2.°, por las moléculas del mismo disolvente. Cuando esta solución está separada del agua pura por una membrana semipermeable, como en el vaso de Pfeffer, las presiones de esta agua por una parte y de la solución por otra, son iguales entre sí e iguales a la presión atmosférica *H*. Pero, en el interior del vaso, la presión del disolvente es inferior a *H*, así como la de la substancia disuelta: solamente la *suma* de estas dos presiones parciales es igual a *H*. Para que haya equilibrio, el agua exterior debe penetrar en el vaso semipermeable hasta que la presión del agua en este vaso llegue a ser igual a *H, poseyendo el cuerpo disuelto siempre su presión propia.*

Fig. 2.—Vaso de Pfeffer.

Esta última presión es la que se manifiesta por una elevación del líquido en el tubo *C y que mide la presión osmótica del cuerpo disuelto* a la temperatura del experimento y respecto de la actual concentración.

Se caracteriza a veces esta afinidad del cuerpo disuelto para el disolvente, diciendo que la *presión osmótica es debida a la atracción que ejerce el cuerpo sólido sobre el disolvente.*

A la misma temperatura, las presiones osmóticas ejercidas por una solución de azúcar son proporcionales a la concentración, es decir, a la cantidad de substancia disuelta, por ejemplo, en 100 cm³ de agua.

Se encuentra así experimentalmente para el azúcar:

Concentración K	Presión P en centímetros de mercurio	Relación $\frac{P}{K}$
1 por 100	53,5	53,5
2 » 100	101,6	50,8
4 » 100	208,4	52,1
6 » 100	307,5	51,3

Siendo la presión osmótica proporcional a la concentración, está en razón inversa del volumen de la solución; se puede, pues, escribir:

$$\frac{P}{K} = \frac{P'}{K'} = \frac{P''}{K''} \cdots, \qquad \text{o bien} \qquad PV = P'V' = P''V'',$$

lo cual no es otra cosa que la *ley de Mariotte aplicada a las soluciones*. En efecto, para los gases, la presión es inversamente proporcional al volumen, o bien directamente proporcional a la cantidad de substancia contenida en la unidad de volumen (Van t'Hoff).

Siendo iguales las demás circunstancias, la presión osmótica *crece con la temperatura* y en la misma relación para todas las materias disueltas. El valor de esta relación, a corta diferencia, es el mismo que el *coeficiente de dilatación de los gases*, o sea $\frac{1}{273}$: es decir, que la presión osmótica ejercida por un cierto peso de una substancia determinada, disuelta en una cantidad fija de agua, aumenta de $\frac{1}{273}$ de su valor para una elevación de temperatura de 1°. Los experimentos han sido hechos con soluciones de azúcar y de tartrato sódico. La ley de Gay-Lussac, relativa a los gases, es, pues, verdadera para las soluciones: *la presión osmótica*

varía proporcionalmente al binomio de dilatación $(1+\alpha t)$. El número α es el mismo para los gases que para las disoluciones.

Se puede llevar más allá la analogía entre un gas y una solución. La ley de Gay-Lussac dice que: *para una misma masa de gas tomada a un volumen constante, la presión crece proporcionalmente a la temperatura absoluta* (es decir, la temperatura contada a partir de $-273°$). Si se combina esta ley con la de Mariotte, se tiene, como fórmula de los gases perfectos:

$$PV = RT,$$

designando P la presión, V el volumen, T la temperatura absoluta y R una constante.

Así, pues: $\frac{PV}{T} = R$. *R es la constante característica de un gas perfecto.*

Su valor es el siguiente. Si se toma por P la presión ejercida por una columna de 76 cm. de mercurio sobre 1 cm^2 de superficie, esta presión es igual a 1033 gr.; si se toma por V el volumen a 0° de la molécula-gramo que es constante para todos los gases, e igual a 22320 cm^3, se tiene:

$$\frac{1033 \times 22320}{273} = 84456 = \text{constante } R.$$

Apliquemos esta misma fórmula $PV = RT$ a una solución, y veamos cuál es, en este caso, el valor de la constante R. Una solución de azúcar al 1 por 100 puesta en el vaso semipermeable, suministra, según Pfeffer, a la temperatura de 6°,8, una columna líquida equivalente a 50,5 cm. de mercurio. Esta presión, evaluada en gramos por centímetro cuadrado, sería:

$$P = 50{,}5 \times 13{,}6 = 686{,}8.$$

Por otra parte, el volumen V ocupado por la molécula-gramo de azúcar (o sea 342) será igual a 34200 cm^3, puesto que se trata de una solución al 1 por 100. Finalmente, $T = 273 + 6.8$. Por lo tanto:

$$R = \frac{686{,}8 \times 34200}{273 + 6{,}8} - 83947.$$

Esta constante es, a poca diferencia, la misma que la de los gases.

Así, no solamente las leyes de Mariotte y de Gay-Lussac son verdaderas para las soluciones diluídas como para los gases, sino que, además, se encuentra que la constante R tiene el mismo valor en los dos casos. Aplicada a las soluciones, la ecuación $PV = RT$

puede expresarse así: *siendo constante el volumen de la solución, la presión osmótica es proporcional a la temperatura absoluta.*

Van t'Hoff ha deducido de lo que precede una ley de las más importantes, análoga a la ley de Avogadro para los gases. Esta última nos dice que: *volúmenes iguales de gases diferentes, tomados a la misma temperatura y a la misma presión, contienen el mismo número de moléculas.* Y ahora diremos: *la presión osmótica de un cuerpo en solución diluída tiene el mismo valor que este cuerpo ejercería, si ocupara, en estado de gas, el volumen ocupado por la solución.* Se puede expresar esto de una manera más clara diciendo: *volúmenes iguales de soluciones isotónicas diversas, contienen el mismo número de moléculas.*

Algunas restricciones relativas a la teoría de las disoluciones.—Hemos comparado en las líneas precedentes los movimientos de las moléculas de los cuerpos disueltos con los de un gas, y hemos demostrado que, en los dos casos, las moléculas ejercen una presión sobre las paredes de los vasos que las contienen: así hemos intentado explicar las causas de la presión osmótica. No es inútil reproducir aquí algunas restricciones importantes relativamente a las ideas anteriores, y en las cuales ha insistido Kahlenberg.

Si se disuelve una sal en el agua, parece que esta sal se difunde en el líquido como un gas en el vacío. Sin embargo, debe entonces hacerse abstracción del líquido con el pensamiento. En efecto, si la sal se esparce en el líquido, no es en virtud de su fuerza elástica, sino más bien por efecto de cierto grado de *afinidad* que se manifiesta precisamente en particular en los fenómenos osmóticos.

La solubilidad de una sal y la expansión de un gas, en el vacío o en otro gas, presentan aún una diferencia capital: todos los gases se mezclan indiferentemente (1) entre sí, mientras que los sólidos no se disuelven de la misma manera en todos los líquidos.

Isotonía de las soluciones equimoleculares. — Las soluciones equimoleculares tienen la misma presión osmótica. En efecto, existe isotonía entre las soluciones que, en 10 litros, contienen los siguientes pesos de materia:

Azúcar de caña . . .	$C^{12}H^{22}O^{11} = 342$	gramos.
Glucosa	$C^6H^{12}O^6 = 180$	»
Ácido málico	$C^4H^6O^5 = 134$	»
— cítrico	$C^6H^8O^7 = 192$	»
— tartárico . . .	$C^4H^6O^6 = 150$	»
— oxálico	$C^2H^2O^4 = 90$	»
Glicerina	$C^3H^8O^3 = 92$	»

(1) Ya se comprende que no pueden mezclarse indiferentemente aquellos gases que reaccionan químicamente entre sí.—C. B.

La presión osmótica ejercida por estos diferentes pesos de materia, disueltos en 10 litros, es igual a 179,1 cm. de mercurio o 2,35 atm. Todas estas substancias son materias orgánicas; un corto número de sales alcalinotérreas se comportan de la misma manera.

La presión osmótica es independiente de la naturaleza de la membrana y de su espesor; es independiente de la naturaleza del cuerpo disuelto y de la del disolvente; depende únicamente del número de moléculas.

Las leyes de la presión osmótica sólo son verdaderas *para las disoluciones diluídas:* en las soluciones concentradas las moléculas de los cuerpos disueltos no se mueven con la misma facilidad.

Lo que acabamos de decir no se aplica más que a las soluciones de cuerpos no electrolitos, es decir, que no conduzcan la electricidad. La mayor parte de las soluciones salinas que conducen la electricidad (electrolitos) presentan ciertas anomalías, tales que su presión osmótica es superior a la que debería ser. La presión no corresponde, en este caso, al número de moléculas que existen verdaderamente en solución, sino a números mayores. De Vries ha fijado *coeficientes isotónicos* propios para cada serie de sales. Cuando se multiplica por estos coeficientes la presión osmótica de 179,1 cm., que es la que ejerce la molécula de los cuerpos antes citados disuelta en 10 litros de agua, se encuentra la presión osmótica ejercida *en realidad* por la substancia salina sometida al experimento, disuelta en el mismo volumen de agua.

Estas anomalías son explicables con verosimilitud por efecto de la formación, en las soluciones diluídas de electrolitos, de cierta cantidad de *iones*. El número de individuos químicos no es el mismo, en una solución en que el cuerpo disuelto no está disociado y no contiene más que moléculas intactas, que en otra en la cual, según el grado mayor o menor de dilución, una cantidad variable de moléculas está disociada en sus *iones*. Ya antes hemos desarrollado estas ideas.

Las soluciones diluídas están caracterizadas, no solamente por una presión osmótica que corresponde a su concentración molecular, sino también por ciertos datos físicos, tales como la disminución de su punto de solidificación, la disminución de la tensión de su vapor y el aumento de su punto de ebullición respecto de su disolvente. Se ha demostrado de una manera muy sencilla que dos soluciones *isotónicas* tienen el mismo punto de congelación, el mismo punto de ebullición y la misma tensión de vapor.

Raoult ha fijado la siguiente ley fundamental de la *crioscopia*: «Si se disuelve una molécula (o una cantidad proporcional al peso

molecular) de una substancia cualquiera en una cantidad constante de un disolvente determinado, *disminuye siempre el punto de solidificación de este disolvente en la misma cantidad,* cualquiera que sea la naturaleza de la substancia disuelta.» Esta ley no se aplica más que a las soluciones diluídas. Las soluciones acuosas de electrolitos, que presentan, como acabamos de ver, anomalías desde el punto de vista de la presión osmótica, presentan también las mismas anomalías respecto de la disminución de su temperatura de solidificación: en general, ésta es demasiado fuerte. La hipótesis de la disociación en *iones* explica la mayor parte de las anomalías observadas en los dos casos.

Asimismo se observan las mismas anomalías, y siempre en el mismo sentido, en el estudio de las disminuciones de la tensión de vapor o de la elevación del punto de ebullición de las soluciones comparadas con el disolvente.

La afinidad del disolvente respecto del cuerpo disuelto, se manifiesta de una manera notable en el estudio de la presión osmótica, en el de la disminución del punto de solidificación de las soluciones, en el de la disminución de la tensión de vapor y en el de la elevación del punto de ebullición de las soluciones. Entre estos diversos fenómenos debe haber *a priori* una relación teórica. En realidad, existen fórmulas que permiten, dada la disminución del punto de congelación de una disolución, calcular su presión osmótica. Y téngase en cuenta que la determinación del punto de solidificación de una disolución es una operación incomparablemente más fácil de hacer que la de la presión osmótica, que exige la preparación de un vaso semipermeable, que es bastante difícil.

Sabido es que, según las reglas de la crioscopia, es fácil calcular la concentración molecular absoluta de las soluciones. Basta dividir el descenso del punto de solidificación observado Δ por 1,85, descenso molecular de una molécula, en solución acuosa, de una substancia no electrolito cualquiera. Para calcular el valor de la presión osmótica se multiplica el cociente así obtenido por 22,32, puesto que una molécula-gramo produce en el espacio de un recipiente de 1 litro una presión de 22,32 atm. y que, para los cuerpos disueltos, el *volumen del disolvente* agua representa el volumen del recipiente para los gases. Se tiene así, para la presión osmótica:

$$P = \frac{\Delta}{1{,}85} \times 22{,}32 = 12{,}06\,\Delta.$$

Van t'Hoff ha dado, por otra parte, una fórmula que permite calcular la presión osmótica en atmósferas cuando se conoce simplemente la *temperatura absoluta*, es decir, la temperatura indicada por un termómetro centígrado, aumentada de 273°, y la *concentración*, esto es, el número de moléculas-gramos contenidas en 1 litro. Esta fórmula, muy sencilla, es la siguiente:

$$P = 0{,}08\ C.\ T.$$

Comprobación de los fenómenos de presión osmótica en las células vegetales.—De Vries, substituyendo los vasos semipermeables por células vegetales, había igualmente observado que las soluciones isotónicas contienen cantidades de sales proporcionales a su peso molecular. Para comprobarlo se hacen una serie de cortes delgados del nervio medio de la cara inferior de una hoja de *Tradescantia discolor*, que se presta muy bien a estas observaciones; se inmergen los cortes en soluciones salinas diversas y se examinan mediante el microscopio. Primero podrá ser que no se observe ningún cambio en la turgescencia de las células; la membrana protoplasmática quedará aplicada contra la pared celular. Pero, si se toman soluciones de una misma sal cada vez más concentradas, se verá, en un momento dado, que la membrana protoplasmática principia a desprenderse de la pared celular. En este preciso momento la solución empleada quita agua al protoplasma: hay *plasmolisis*, y la presión osmótica de la solución es igual o ligeramente superior a la del jugo celular. Si se opera del mismo modo con otras soluciones, tomando nota de la concentración en la cual, respecto de las células de una misma planta, hay principio de plasmolisis, se comprueba con bastante exactitud el hecho de que *todas estas soluciones isotónicas contienen cantidades de sales proporcionales a su peso molecular*. Partiendo de esto, de Vries ha podido también, mediante experimentos de plasmolisis, determinar el peso molecular desconocido de un azúcar especial, la *rafinosa* (véase más adelante).

Importancia de las consideraciones deducidas del estudio de la presión osmótica.—Los cálculos efectuados partiendo de los experimentos hechos con el vaso de Pfeffer, demuestran que la presión osmótica es muy variable en la célula y que a menudo es muy elevada; puede variar de 3 a 25 atmósferas y aun llegar más allá.

Según Pfeffer, algunas mucedíneas *(Penicillium glaucum, Aspergillus niger)* son capaces de prosperar en soluciones concentradas; su jugo celular puede ser isotónico de una solu-

ción de nitrato sódico al 38 por 100 y tener así una presión de 175 atmósferas. Si se transportan al agua pura vegetales acomodados á una solución salina algo concentrada, sus células se desgarran por efecto de un aumento de presión que, en el *Aspergillus*, llega a 160 atmósferas.

Resumiendo, el papel que debe atribuirse a la presión osmótica, considerada como causa de la penetración en la célula de substancias procedentes del exterior, diremos que la célula vegetal es, generalmente, hemipermeable y que únicamente pueden efectuarse cambios de agua a través de su membrana. Pero, y conviene recordarlo, esta hemipermeabilidad *no es absoluta* y no existe verosímilmente más que en ciertas épocas de la vida de la célula. Por otra parte, es posible que una membrana sea permeable para una substancia disuelta, mineral u orgánica, e impermeable para otra: se trataría, pues, aquí de una *selección* ejercida por la membrana. Este modo de ver las cosas no es de ningún modo hipotético: las diversas plantas que viven en una misma tierra se cargan de cantidades muy diferentes de materias salinas, tanto en concepto cuantitativo como cualitativo.

Las células vegetales no son semipermeables respecto de los alcoholes monovalentes, los aldehidos y las quetonas. La glicerina y la urea las penetran lentamente (De Vries). La permeabilidad de una célula, respecto de ciertos cuerpos, depende de la solubilidad de éstos en los *lipoides*, que constituyen en su mayor parte la membrana de envoltura celular (lecitinas, colesterina). Según esto, los lipoides formarían un grupo de substancias muy heterogéneas desde el punto de vista químico: estarían relacionados unos con otros por un conjunto de propiedades físicas (Overton). Sin embargo, según Rufz de Lavison (1911), la naturaleza química de la membrana carecería de importancia, ya que las sales de los metales pesados, que son solubles en la albúmina y en los lipoides, no penetran en el protoplasma viviente.

Se puede decir que la *concentración molecular de los líquidos de la economía animal oscila alrededor de un eje representado por la concentración del suero sanguíneo* (Winter). Este equilibrio osmótico debe hallarse también en el vegetal: y con ayuda de leyes deducidas del estudio de la presión osmótica es como mejor se pueden explicar ciertos fenómenos, como la ascensión del agua en los vegetales de gran altura, la acumulación de muchas substancias solubles de reserva, por ejemplo, el azúcar, en las raíces, y esto en proporciones que a menudo son considerables.

VII

FENÓMENOS DIASTÁSICOS

Hemos examinado, en lo que precede, la manera como penetra una solución en el interior de una célula, así como las leyes que rigen esta penetración. Pero, la célula no conserva más que raramente, sin transformarlas, las substancias que llegan a ella del exterior o que ha elaborado por sí misma, en virtud de la asimilación clorofiliana, por ejemplo. Generalmente hace sufrir a estas substancias una serie de metamorfosis *que son la consecuencia de la actividad de su protoplasma*. Así se ve que las materias ternarias solubles, como la glucosa, se condensan formando la fécula: ésta, a su vez, se solubiliza y origina glucosa, maltosa y sacarosa. La última, almacenada en grandes cantidades en ciertos órganos, puede fijar una molécula de agua y desdoblarse en moléculas iguales de glucosa y levulosa. Por último, las grasas, por fijación de agua, se desdoblan, en determinadas condiciones, en glicerina y ácidos grasos (saponificación).

Todas estas acciones químicas — y muchas otras que se efectúan en la célula, por ejemplo, las que se ejercen respecto de las substancias nitrogenadas — se realizan bajo la influencia de cuerpos especiales, segregados por el mismo protoplasma. Estos cuerpos han recibido los nombres de *diastasas, fermentos solubles, fermentos químicos, zimasas, enzimas*. Esta última expresión es actualmente la más comúnmente empleada.

La célula lleva en sí misma el agente de las variadas transformaciones que acabamos de citar. Es, pues, indispensable abocetar aquí rápidamente lo que se conoce del mecanismo que preside en la acción de las enzimas.

Papel de las enzimas.—Numerosas son las enzimas que existen en los tejidos vegetales; a cada una de ellas corresponde un papel bien determinado, y la misma célula puede contener muchas. Falta todavía descubrir un método que permita su aislamiento en estado de pureza, porque la altera-

bilidad de algunas de ellas parece ser muy grande cuando son extraídas de la célula: así, podrá ser que sus propiedades activas sólo se manifiesten en el interior de ésta. Pero, por regla general, estas materias especiales son solubles o seudosolubles en el agua y precipitables por la adición de alcohol. Basta desecar en el vacío el coágulo así formado para obtener una materia amorfa, capaz de producir algunas de las transformaciones antes citadas.

Es evidente — a causa del procedimiento que ha servido para obtenerlos — que los fermentos solubles constituyen necesariamente una mezcla compleja, de la cual es imposible actualmente definir y aislar los componentes. Las curiosas propiedades que poseen no deben ciertamente atribuirse más que a una fracción, tal vez muy pequeña, de su peso.

Por de pronto, lo que más sorprende cuando se examina de cerca la acción de las enzimas, es la *enorme desproporción* que existe entre el peso de la materia activa y el de la substancia sobre la cual actúa la enzima. Una infusión de semillas de cebada germinadas, por ejemplo, preparada con pocas semillas, puede liquidar y transformar en materias azucaradas solubles un peso considerable de engrudo de almidón. Sin embargo, la velocidad de la reacción aumenta con la cantidad de fermento añadida.

La expresión de *fermento soluble, fermento químico,* sirve para distinguir estas materias activas de los *fermentos figurados* o *vivos.*

Hemos dicho que las enzimas proceden de la actividad de la célula vegetal; pero ellas de por sí carecen de vida, no se reproducen como las células de los fermentos figurados. La enzima especial que, en el ejemplo anterior, liquida el engrudo de almidón, parece ser un *intermediario* entre el almidón insoluble inicial y la materia azucarada soluble: un agente capaz de fijar los elementos del agua sobre el almidón, sin que él mismo entre en reacción. Tal vez experimenta una descomposición momentánea o, a lo menos, una profunda modificación. Pero, inmediatamente es regenerado con sus propiedades y su actividad primitivas.

Mientras que las fermentaciones producidas por la acción de los fermentos figurados (levaduras, mohos, etc) se amortiguan o cesan en presencia de cierta proporción de un anestésico (cloroformo, éter), la acción de los fermentos solubles no es dificultada en estas condiciones mientras, ciertamente, la proporción empleada del anestésico no sea demasiado considerable.

En resumen, toda célula vegetal es capaz de segregar una o más substancias especiales, susceptibles de producir en

los jugos que contiene acciones químicas profundas de condensación, de hidratación y hasta de oxidación (enzimas oxidantes, oxidasas) o de reducción (reductasas).

Estas notables secreciones pueden a veces faltar en absoluto; aparecen en un cierto momento de la evolución celular, después desaparecen. Toda causa exterior que retarde el desarrollo de un vegetal puede ser una causa de ausencia, de desaparición o de disminución en la secreción de una enzima.

Debe notarse que la mayoría de los fermentos figurados, aislados en estado de pureza, se comportan, por otra parte, desde el punto de vista del resultado final obtenido, como la misma célula. En efecto, estos fermentos figurados no actúan sobre tal o cual materia *más que por sus secreciones,* del mismo modo que la célula vegetal no actúa más que por la producción de enzimas: lo atestigua la acción del zumo de la levadura sobre la glucosa, con producción de alcohol y de gas carbónico (Büchner), de la invertina segregada por esta misma levadura sobre el azúcar de caña que desdobla en glucosa y levulosa.

Se puede decir, pues, que, si la enzima procedente de la célula vegetal o del fermento organizado es la *materia verdaderamente activa* en la serie de transformaciones que conducen sucesivamente la fécula, por ejemplo, del estado insoluble y muy condensado al estado de materia azucarada soluble infinitamente menos condensado, esta célula vegetal o este fermento organizado no deja de ser el *agente inicial* de producción de las substancias solubles activas.

Adquiridas estas nociones indispensables, podemos abordar el examen de los fenómenos generales de la nutrición de la planta. Principiaremos por el estudio de la función de asimilación en la planta verde: gracias a la síntesis carbonada puede mantenerse la vida en la superficie del globo.

Pero, antes resumiremos muy sucintamente, en el siguiente capítulo, la historia de los progresos de la química agrícola.

CAPÍTULO II

EXPOSICIÓN SUMARIA DE LAS DOCTRINAS AGRÍCOLAS (1)

Se puede decir que el estudio racional de la nutrición de las plantas y la investigación de las causas de la fertilidad de los suelos están íntimamente relacionados con los progresos de la química. Antes de los trabajos de Lavoisier, los agrónomos ignoraban totalmente las verdaderas necesidades del vegetal. Aquel químico inmortal había dado, sin embargo, nociones de absoluta precisión respecto de este punto cuando decía: *Los vegetales toman del aire que les rodea, del agua y, en general, del reino mineral, las materias necesarias para su organización. Los animales se nutren de vegetales o de animales que a su vez se han alimentado con vegetales, de manera que las materias que los forman en último término proceden siempre del aire y del reino mineral. Por último, la fermentación, la putrefacción y la combustión devuelven perpetuamente al aire de la atmósfera y al reino mineral los principios que los vegetales y los animales antes les tomaron.* Estas ideas de Lavoisier sobre la estática de los seres vivos no fueron conocidas hasta más de los sesenta años después de su muerte. En efecto, fué en 1847 que J. B. Dumas, encargado por una comisión de la Academia de Ciencias de examinar algunos documentos inéditos que habían pertenecido a Lavoisier, encontró entre ellos uno escrito de su propia mano, que no llevaba fecha alguna, pero escrito probablemente a fines del año 1792 o a primeros del siguiente. Al principio de este trabajo se hallan las palabras que acabamos de citar. Dumas lo dió a conocer al mundo sabio en una conferencia dada en la Sociedad Química de París en 1860.

Así no hay que sorprenderse de que hayan continuado teniendo partidarios las ideas más equivocadas sobre la nutrición vegetal hasta 1840, época en que apareció el libro de Liebig.

(1) El lector que desee conocer con algunos pormenores la historia de las doctrinas agrícolas, encontrará una reseña muy interesante de esta cuestión en la obra de L. Grandeau: *Chimie et physiologie appliquées à l'agriculture et à la sylviculture,* París, 1879, págs. 30 y siguientes.

De todos modos, justo es decir que, doscientos cincuenta años antes de Lavoisier, Bernardo Palissy, ya en el año 1563, había emitido ideas notablemente acertadas sobre la verdadera causa de las propiedades fertilizantes de los estiércoles En la época en que vivía este último —y la misma opinión no dejó de ser admitida casi por todos hasta Liebig— no se concedía valor fertilizante más que al estiércol *como materia orgánica* y a los restos vegetales que el suelo contiene. Estos, procedentes de la vida de la planta, debían nuevamente, según se creía, entrar en las plantas en virtud de las fuerzas vegetativas. Las ideas de Bernardo Palissy no fueron comprendidas por sus contemporáneos como no lo fueron por sus sucesores durante cerca de trescientos años. La idea de *restituir* al suelo, no la materia orgánica, sino la *materia mineral* que las cosechas continuamente exportan, fué formulada de una manera precisa por Bernardo Palissy. Decía él que el estiércol no sirve más que por la *sal* que dejan la paja y el heno al podrirse.

Por este nombre de *sal,* de una significación muy vaga, debe entenderse, a no dudarlo, el *residuo fijo* que suministran todas las partes de los vegetales, ya sea cuando se abandonan a la putrefacción completa, ya sea cuando se queman. Las semillas toman la sal de la tierra y son para ésta una causa de empobrecimiento. La práctica consistente en quemar leña en el suelo y amontonar las cenizas, no tiene otro objeto que devolver al suelo la sal que los árboles han extraído. La idea de *restitución* domina en el pensamiento de Bernardo Palissy: pero, estas nociones quedaron siendo letra muerta durante cerca de tres siglos.

A fines del siglo XVIII los métodos precisos de la química principiaban a penetrar en el espíritu de los hombres de ciencia. El uso de la balanza, que introdujo Lavoisier en el trabajo de laboratorio, se generalizaba, y no debían tardar en abrirse paso capitales descubrimientos relativos principalmente a las leyes ponderales de la química: la ley de las proporciones definidas y la de las proporciones múltiples, ya en germen en los trabajos de Lavoisier, eran la consecuencia del empleo de métodos rigurosos en el análisis de los fenómenos naturales.

Y, sin embargo, nada de estos descubrimientos capitales aprovecha de pronto al conocimiento de la verdadera manera como la planta toma su alimento del medio en que vive, especialmente del suelo.

Todos los agrónomos estaban imbuídos de la idea de que el *humus* solo, es decir, el producto de la descomposición de los vegetales muertos, debía servir para alimentar a otros vegetales, y de que una tierra era tanto más fecunda cuanto mayor proporción de humus contenía. La teoría del humus encontró un ardiente defensor en la persona de Th. de Saussure. Este, a quien debemos notables trabajos sobre la respiración, sobre el papel del agua en las plantas y sobre la absorción por parte de éstas de las disoluciones salinas, con-

cedía sin duda cierta importancia a la presencia de materias minerales: pero, no formuló de un modo preciso la necesidad de la restitución al suelo de estas materias. En el prefacio de sus *Recherches chimiques sur la végétation* (París, 1804), dice: *Mis investigaciones me conducen a enseñar que el aire y el agua contribuyen más a la formación de la substancia seca de las plantas que crecen en un suelo fértil, que la materia misma del mantillo que absorben en disolución en el agua por sus raíces.* El sabio ginebrino había observado que el mantillo forma con la materia mineral una combinación de carácter especial; creía él que el *extracto de mantillo*, es decir, la materia que se disuelve cuando se trata el mantillo por agua, contribuía a la alimentación de la planta, si bien que ésta no tomaba allí más que una pequeña parte de su propia substancia. Habiendo cultivado algunos vegetales en disoluciones acuosas puramente minerales, observó que el vegetal *no absorbe en la misma proporción todas las substancias contenidas a la vez en una misma disolución*, y que esta absorción se efectúa, en general, en mayor cantidad respecto de las substancias cuyas soluciones separadas son menos *viscosas*. Una de las principales conclusiones a que llegaba de Saussure, era la siguiente: *Cuando se compara el peso del extracto que puede suministrar el suelo más fértil con el peso de la planta seca que en él se ha desarrollado, se encuentra que la planta no ha podido tomar de él más que una parte muy pequeña de su propia substancia.* Sin embargo, el pequeño peso en que la materia mineral entra en la composición de la planta, no es forzosamente una señal de su inutilidad.

Todos los contemporáneos de Saussure, tanto los hombres de ciencia como los prácticos, sólo concedieron una importancia de orden secundario a las sales minerales. Consideraban a éstas como *estimulantes* apropiados para favorecer la acción de los abonos (estiércol); a veces también eran consideradas las sales como indiferentes y aun como perjudiciales. Opiniones de esta índole se hallan en los escritos de Thäer, de Mathieu de Dombasle, de H. Davy y, algo más tarde, de Payen.

Puesto que concedían un papel indispensable al humus, los agrónomos de esta época deberían haber investigado el origen de este humus.

A. Brongniart lo formuló en 1823 en una memoria leída en una de las sesiones públicas de la Academia de Ciencias: pero, las ideas expuestas por este sabio no conmovieron los espíritus; Liebig mismo las ignoró sin duda.

Parece imposible—dice Brongniart—suponer que los vegetales hayan podido tomar de otra parte que de la atmósfera, y en estado de gas carbónico, el carbono que se encuentra en todos los vegetales y en todos los animales, así como el que se ha depositado en forma de hulla en el seno de la tierra. Los animales no toman su carbono de la atmósfera, ni del suelo, sino solamente de sus alimentos:

sólo los vegetales han debido tomar de una *substancia inorgánica* el carbono necesario para su crecimiento y este carbono ha servido después de alimento a los animales. *No concebimos, si el carbono hubiese estado en forma sólida, cómo habrían podido asimilarlo los vegetales: y, además, en los terrenos más antiguos que los que contienen los primeros restos de vegetales, apenas se conocen algunos indicios de carbón.* Por lo tanto, la atmósfera debía ser, en las épocas primitivas, mucho más rica en gas carbónico que en la época actual, y esta riqueza ejerció una influencia capital en la exuberante vegetación de las primeras edades. Pero, en cambio, la descomposición de los restos de los vegetales muertos y su transformación en mantillo debían ser muy difíciles, porque el oxígeno, que es el agente exclusivo de la descomposición, existía entonces en la atmósfera en proporción relativamente pequeña. Son, pues, los vegetales los que han purificado la atmósfera privándola del exceso de gas carbónico que contenía: el carbono se ha inmovilizado en forma de hulla. La existencia del humus no ha sido, pues, anterior a la de los vegetales: es una consecuencia natural de la descomposición de la materia vegetal. Las plantas han tomado su carbono a una substancia puramente mineral, el gas carbónico.

Liebig llega a las mismas conclusiones en su famosa obra publicada en 1840: *Química orgánica aplicada a la agricultura y a la fisiología: «La naturaleza inorgánica exclusivamente es la que ofrece a los vegetales su primera fuente de alimentación.»* Partiendo de este principio, Liebig funda su *teoría mineral* de la nutrición de los vegetales. Mientras que sus antecesores no atribuían a la composición química y geológica del suelo más que una importancia secundaria, el ilustre agrónomo, aplicando el análisis químico al estudio del suelo y de todas las partes de la planta, enseña que el vegetal toma del suelo ciertas materias minerales, que son las mismas en suelos diferentes. No deben considerarse las substancias que constituyen las cenizas como fortuitas: estas substancias sólo son absorbidas porque son indispensables para el desarrollo del vegetal. El estiércol que, según las ideas antiguas, era el único alimento que la planta era capaz de aprovechar, no sirve en realidad más que por las substancias minerales que contiene. Su empleo exclusivo en tal o cual suelo no conduce siempre a un resultado perfecto, porque la *restitución* mediante el estiércol de los elementos quitados a este suelo por el cultivo, a menudo es muy incompleta. En efecto, el suelo está privado de las materias minerales definitivamente exportadas por los granos, los forrajes, la leche y la carne muscular. Por consiguiente, si se quiere mantener la fecundidad de una tierra siempre a un mismo nivel, es necesario devolverle los elementos que le han sido substraídos. El estiércol solo, no es suficiente; es preciso adicionar al suelo los elementos salinos que se encuentran en la parte de las cosechas que le han sido quitadas o que se han inmovilizado en la leche o en la carne muscular.

Estos datos nuevos tienen una importancia capital: han sido el punto de partida de una revolución agrícola tan completa como la debida a los trabajos de Lavoisier en el dominio de la química general.

Los elementos existentes en el suelo, o en la atmósfera, útiles a las plantas, son exclusivamente *elementos minerales:* gas carbónico, amoníaco, ácido nítrico, agua, ácido fosfórico, cal, potasa, magnesia, hierro, ácido sulfúrico. Están unidos entre sí por estrechas relaciones. Si uno de ellos llega a faltar, el desarrollo de la planta es nulo. La materia orgánica que contiene el suelo no ejerce influencia directa sobre la producción vegetal; su descomposición engendra productos minerales simples, como el gas carbónino y el amoníaco, que son los verdaderos alimentos del vegetal. Se puede, pues, reemplazar los estiércoles por los elementos salinos que ellos contienen. El *humus,* es decir, la materia parda o negra, resto de vegetaciones anteriores, no es, por lo tanto, absorbido directamente: de todos modos su papel en el suelo no es inútil, porque, según acaba de decirse, el producto principal de su oxidación, el gas carbónico, posee, gracias a la presencia del agua, un poder disolvente: muy lento sin duda, pero constante, respecto de los elementos minerales de las muy variadas rocas que forman parte de la corteza terrestre.

Tales son, a grandes rasgos, las ideas de Liebig sobre la nutrición vegetal.

La antigua práctica del *barbecho* y la de las *rotaciones de cultivos* tenían en estas nuevas teorías una explicación racional. Un suelo en barbecho está sometido a un trabajo mecánico destinado a poner en contacto con el aire nuevas capas de tierra; estas capas, por efecto de un desmenuzamiento renovado sin cesar, experimentan, en la materia orgánica que contienen, la influencia del oxígeno atmosférico. El gas carbónico resultante de esta acción solubiliza, en contacto con el agua, nuevos elementos minerales. Cuanto más abundante es este gas, más rápidas y más profundas serán las transformaciones químicas en el interior del suelo.

La práctica de las rotaciones de cultivos, que consiste en una razonada alternativa de cultivos en el mismo suelo, se explica de una manera satisfactoria por el hecho de que, según Liebig, las plantas del gran cultivo deben dividirse en cierto número de categorías. Cada una de ellas está caracterizada por el *predominio* en sus cenizas de una substancia mineral particular: una planta exige sobre todo cal, otra potasa, otra sílice (elemento al cual Liebig atribuía una importancia exagerada). El objeto de la rotación de cultivos debe ser, pues, *alternar* los cultivos de manera que, a una planta que requiera grandes cantidades de una materia mineral determinada, siga otra planta cuyas necesidades minerales sean diferentes: siendo la restitución de la totalidad de las materias minerales exportadas siempre la base de cultivo racional. En efecto, si un vegetal exige grandes cantidades de potasa (plantas-raíces, plan-

tas de tubérculos), no es menos cierto que también requiere, sin duda en menor proporción, todos los demás elementos minerales indispensables para su desarrollo: cal, ácido fosfórico, magnesia, etc.

La teoría mineral de Liebig no le hacía admitir, como substancias indispensables, más que aquellas que forman parte de las *cenizas* de la planta. La importancia del nitrógeno era de orden secundario, porque, a los ojos de Liebig, como existia casi siempre un considerable aprovisionamiento de este elemento en todos los suelos, no había motivo para ocuparse en su restitución. En efecto, suponiendo una riqueza media de $^1/_{1000}$, la superficie de una hectárea de tierra, con un espesor de 40 cm., pesando el conjunto 4000 toneladas, contendría 4000 kilogramos de nitrógeno. La cantidad de nitrógeno aplicada con el empleo de los estiércoles parece, pues, insignificante, cuando se compara esta cantidad con la que existe normalmente en el suelo. Boussingault combatió fácilmente esta opinión, haciendo ver la superioridad del rendimiento obtenido, en una determinada cosecha, con el empleo de cierta cantidad de estiércol comparado con el empleo de materias minerales solas (cenizas) contenidas en la misma masa de estiércol.

Por otra parte, generalmente no puede deducirse la utilidad de tal o cual materia mineral a partir de las cifras en bruto suministradas por el análisis del suelo. En efecto, si se generalizase el anterior razonamiento relativo al nitrógeno, se debería razonar del mismo modo respecto de todas las materias minerales: los suelos con $^1/_{1000}$ de ácido fosfórico no son escasos, por lo tanto la adición de esta substancia es inútil; los suelos con $^5/_{1000}$ de potasa se encuentran con bastante frecuencia: por esto la adición de potasa es inútil. Y la teoría de la restitución quedaría, en consecuencia, fuertemente debilitada, si no destruída.

Pero, observemos—y este punto es fundamental—que es mucho menos la cantidad que la *calidad* de un elemento mineral lo que debe tenerse en cuenta en agricultura. Del enorme aprovisionamiento de nitrógeno o de ácido fosfórico que contiene un suelo, sólo una fracción, y a veces muy pequeña, es utilizable *actualmente* por el vegetal. El resto, es decir, la mayor parte, no se vuelve asimilable más que a la larga, ya sea con el empleo de ciertos agentes físicos (labores) que facilitan el trabajo químico de disolución que ejerce el gas carbónico, ya sea por efecto de la lentitud con que se efectúan los fenómenos microbianos: tal es el caso de la modificación de la materia nitrogenada.

Sea lo que fuere, la teoría mineral de Liebig ha sentado las bases de la química agrícola racional y ha enseñado cuáles eran los verdaderos alimentos de la planta. Esta teoría recibió inmediatamente la sanción de numerosos experimentos sintéticos. Una semilla puede desarrollarse y llegar al estado de vegetal perfecto si, plantada en un medio inerte sólido, como la sílice, o simplemente en el

agua, recibe los elementos indispensables para su nutrición *en forma exclusivamente mineral,* por ejemplo en forma de sales. No hay necesidad de ofrecerle materias carbonadas; le basta el gas carbónico del aire. Tal es la formal conclusión de los trabajos de Liebig.

Veremos más adelante que es sin duda posible hacer absorber a una planta superior materias orgánicas ternarias, y aun cuaternarias, que sirven para la edificación de sus tejidos y que, por consiguiente, contribuyen al aumento de peso de su materia seca. Algunos vegetales provistos de clorofila, parásitos o simbiotas, probablemente pueden absorber el humus, si no por completo, a lo menos algunos de sus componentes. Pero, estos hechos de alto interés no podrían contradecir la teoría mineral, tal como la concibió Liebig, porque, en la inmensa mayoría de los casos, la planta no aprovecha directamente las materias orgánicas puestas a su alcance y puede florecer y fructificar cuando se ponen sus raíces en contacto con las cenizas de una planta semejante a ella.

Así, parece que solamente un corto número de elementos minerales son indispensables para la nutrición de la planta.

Sin embargo, el análisis químico detenido enseña que, a veces, las cenizas de ciertos vegetales contienen otros cuerpos como el rubidio, el cesio, el manganeso, el zinc, el cobre, el titano, el yodo, el boro, etc. Estos elementos, que se hallan en indicios, ¿son fortuitos o desempeñan un papel en la economía de la planta? Respecto de algunos de ellos, lo último no es dudoso: tal es el caso del manganeso. Nuevas investigaciones enseñarán lo que debe pensarse de la utilidad de los demás cuerpos simples que hemos citado.

La química agrícola no ha cesado de hacer inmensos progresos desde los trabajos de Liebig. Pero, hay un nombre que es indispensable asociar al del sabio alemán en la historia del desarrollo de esta ciencia: el nombre de J. B. Boussingault. Basta recordar sus magistrales estudios sobre la alimentación de los animales, sobre los fenómenos químicos de la vegetación, sobre la composición de los suelos y sobre el empleo de los abonos.

Sería injusto no citar también, en esta demasiado corta nomenclatura, los nombres de dos ilustres agrónomos ingleses, Lawes y Gilbert, cuya inmensa labor, continuada durante medio siglo, ha dotado a la ciencia de preciosos datos prácticos.

Una era de nuevos descubrimientos y de un interés de primer orden se abre para la química agrícola con las investigaciones de Pasteur. Muchos fenómenos naturales han recibido una explicación definitiva el día en que se ha demostrado que estos fenómenos dependían de la vida microbiana. Citemos, entre los hechos más salientes, el descubrimiento del agente vivo de la nitrificación por Schlœsing y Muntz (1878), descubrimiento completado algunos años más tarde (1891) por los notables trabajos de Winogradsky; el descubrimiento del fenómeno inverso de desnitrificación, en la cual toman parte, sin duda ninguna, muchas especies microbianas; este estudio, empren-

dido por numerosos fisiólogos, dista mucho de estar acabado; el descubrimiento de la fijación microbiana del nitrógeno gaseoso por el suelo, debido a Berthelot (1885); el de la fijación del nitrógeno gaseoso por las leguminosas, por Hellriegel y Wilfarth (1886). Este último descubrimiento, no solamente da la explicación buscada hacía mucho tiempo del enriquecimiento espontáneo del suelo en nitrógeno por efecto del cultivo de ciertas leguminosas, sino que ha proporcionado un nuevo ejemplo de los curiosos fenómenos de *simbiosis*, es decir, de *vida común*, en los cuales se ve a un hongo, que vive en las raíces de la planta hospitalaria, llevar a ésta el elemento nitrógeno tomado primero a la atmósfera en forma gaseosa.

Las investigaciones hechas en estos últimos tiempos sobre la asociación simbiótica de gran número de algas, que viven en la superficie de la tierra de labor, con ciertas bacterias del suelo—asociación que tiene por consecuencia la fijación del nitrógeno gaseoso en la tierra vegetal,—han completado de feliz manera los resultados del descubrimiento de Hellriegel y Wilfarth.

Tales son las principales conquistas hechas en el curso de los últimos treinta años en el dominio de la ciencia agrícola. Pero, su campo es inmenso. Existen ciertos problemas sobre los cuales no poseemos más que datos muy inciertos, por ejemplo el de la asimilación clorofiliana, fenómeno capital en el estudio del ciclo de la vida en la superficie del globo. Según veremos en el siguiente capítulo, estamos reducidos actualmente a conjeturas más o menos vagas cuando se trata de explicar el mecanismo de la influencia de la luz en la descomposición del gas carbónico.

En presencia del rápido desarrollo de todas las ramas de la ciencia en que nos encontramos, no son demasiados los esfuerzos combinados de toda una falange de especialistas, que se unen en verdadera *simbiosis científica*—fisiólogos, químicos, físicos, botánicos—cuando se trata de penetrar los secretos que se refieren a la nutrición y a la organización de los seres vivos.

CAPÍTULO III

FUNCIÓN CLOROFILIANA. ASIMILACIÓN DEL CARBONO

Leyes del fenómeno; naturaleza y proporciones de los gases cambiados.—Vías por las cuales se efectúan los cambios gaseosos.—Función clorofiliana separada de la respiración.—Teoría de la asimilación clorofiliana.—Hipótesis sobre la descomposición del agua en el fenómeno clorofiliano.—Influencia de los agentes exteriores en el fenómeno asimilador; acción de la luz, acción del calor.—Medición cuantitativa de la asimilación clorofiliana.—Nutrición de las plantas verdes a expensas del carbono orgánico.

I

VISTA DE CONJUNTO DEL FENÓMENO CLOROFILIANO

La característica de los vegetales provistos de la materia verde llamada *clorofila*, es el tomar el carbono constituyente de sus tejidos del gas carbónico contenido en la atmósfera. Es éste un fenómeno sintético capital; no podría existir vida animal en la superficie del globo si los vegetales verdes no fuesen capaces de poner en circulación el gas carbónico, producto de desecho de todas las combustiones.

La intensidad de la asimilación carbonada es colosal. Un cálculo aproximado enseña que, por año y por hectárea, las plantas forestales y las que vegetan espontáneamente en los prados toman de 2500 a 5000 kilogramos de carbono a la atmósfera. Una hectárea de plantas cultivadas, de elevado rendimiento, puede extraer de la atmósfera triple cantidad

de carbono. Téngase en cuenta que, en el aire que respiramos, la proporción de gas carbónico es mínima: por término medio es de $\frac{3}{10000}$, es decir, que, en 10000 m³ de aire, hay 3 m³ ó 5880 gr. de gas carbónico, que contienen 1603 gr. de carbono. Pero, gracias a la incesante renovación de las capas de aire encima del suelo por la acción de los vientos, los vegetales pueden disponer de una cantidad ilimitada, por decirlo así, de aire, y, por consiguiente, de gas carbónico. Si éste es continuamente destruído por las hojas verdes, vuelve a formarse por otra parte de una manera no interrumpida por efecto de los fenómenos de combustión de toda clase que se realizan en la superficie de la tierra.

Digamos ahora que, de todos los gases carbonados conocidos, el ácido carbónico es el único que es descompuesto por la materia verde de las hojas. El óxido de carbono ha sido considerado durante largo tiempo como indescomponible por los vegetales: recientes experimentos parecen hacer creer que, en ciertas condiciones, este gas sería asimilado de la misma manera que el ácido carbónico. Pero, antes de admitir esta opinión, son indispensables nuevos ensayos confirmativos.

Solamente las partes verdes de la planta son capaces de descomponer el gas carbónico; éste cede su carbono al vegetal, y el oxígeno, puesto en libertad, se desprende en la atmósfera. Si no existiesen fenómenos de combustión, la atmósfera terrestre se despojaría poco á poco de todo el gas carbónico que contiene y se enriquecería en oxígeno. La materia verde de los vegetales desempeña el papel de *regulador* de la pureza de la atmósfera; separa los elementos del gas carbónico, impropio para la vida animal, y regenera el oxígeno.

¿Cuáles son las condiciones necesarias para la producción del fenómeno asimilador? Si las partes verdes son las únicas capaces de efectuar este trabajo de separación de los elementos del gas carbónico, no es, sin embargo, menos indispensable el concurso de *ciertos agentes exteriores*. Entre estos agentes, el que tiene más importancia es la *luz solar*. La

iluminación más o menos directa de la parte verde por los rayos del sol, es absolutamente necesaria para que se cumpla la función clorofiliana. En la obscuridad cesa inmediatamente.

Sabido es que la luz blanca que nos envía el sol no es una luz simple, sino que está formada por cierto número de luces coloreadas, de desigual refrangibilidad, que pueden ser recogidas en una pantalla cuando el rayo luminoso ha sido descompuesto por un prisma. De todas estas luces de diferente refrangibilidad, unas son capaces en alto grado de producir el fenómeno clorofiliano: las otras tienen un poder mucho menor en este concepto. De todas maneras, se puede decir ya que todo el espectro visible, y aun parte del espectro invisible (rayos ultraviolados), es apto, con una intensidad que varía mucho en cada región, de descomponer, en contacto con la materia verde de los vegetales, el gas carbónico.

Otro agente exterior interviene también en el fenómeno clorofiliano: este agente es el *calor*. A algunos grados debajo de 0° la asimilación cesa respecto de la mayoría de las plantas verdes: a una temperatura máxima de 50° por encima de 0°, también cesa la asimilación. Se puede decir que cada planta posee una *temperatura óptima* de asimilación.

Resulta de lo que antecede, que la asimilación clorofiliana consiste esencialmente en un *cambio gaseoso:* absorción de gas carbónico y expulsión consiguiente de oxígeno, con el concurso de la luz y de una determinada elevación de temperatura. Observemos que todo ser viviente *respira,* es decir, quema en sus tejidos ciertos principios carbonados, y que esta *combustión,* que caracteriza a la vida, es una fuente de calor y, por consiguiente, de energía. Las plantas verdes, si bien son eminentemente aptas para descomponer el gas carbónico, sin embargo respiran y destruyen una parte de la materia carbonada que han almacenado. Este fenómeno antagónico de la respiración se efectúa aun cuando la planta esté iluminada por los rayos solares. Pero, la combustión del carbono y su desaparición en estado de gas carbónico que se desprende en la atmósfera hacen perder a la planta una parte de su peso incomparablemente menor que la ganancia

que resulta para ella del ejercicio de la función de asimilación: de donde resulta el aumento de peso de la planta.

Una antigua expresión viciosa, la de la *respiración diurna*, aplicaba este nombre a la asimilación clorofiliana, en contraposición con la *respiración nocturna,* que se efectúa lo mismo en las plantas verdes que en las que carecen de clorofila. La asimilación clorofiliana, sin duda, consiste esencialmente en un cambio de gases, pero es ante todo un fenómeno *de asimilación*, *de crecimiento:* en una palabra, una causa de aumento del peso de la planta. La respiración, por el contrario, es un fenómeno absolutamente inverso: se manifiesta por una pérdida de peso. La palabra *respiración*, tanto si se trata de vegetales como de animales, tiene, pues, un sentido perfectamente determinado, y esta palabra no debería emplearse cuando se trata de un fenómeno de crecimiento.

Importancia del fenómeno clorofiliano. — ¿Qué beneficio reporta a la planta la descomposición del gas carbónico? El carbono de éste, en contacto con los elementos del agua, engendra, con sorprendente rapidez, los cuerpos fundamentales que se llaman *hidratos de carbono*, porque están formados, al parecer, por la combinación del carbono con el agua. Tales son la glucosa ($C^6H^{12}O^6$), la levulosa ($C^6H^{12}O^6$), el azúcar de caña o sacarosa ($C^{12}H^{22}O^{11}$), la maltosa ($C^{12}H^{22}O^{11}$), la fécula ($C^6H^{10}O^5$) n, etc. El origen de estos hidratos de carbono debe ser buscado únicamente en la síntesis clorofiliana (1), y sabido es el papel capital que, en concepto de generadores de calor, desempeñan estas substancias en la economía animal.

Debemos, pues, a la luz solar sola la síntesis de los cuerpos ternarios. Pero, el organismo vegetal comprende también materias cuaternarias, en las cuales el nuevo elemento es el nitrógeno. Estas materias cuaternarias, tan indispensables al

(1) No se crea que no pueda obtenerse artificialmente ningún hidrato de carbono, pues han sido ya varios, como indica el autor más adelante, los que han podido obtenerse en los laboratorios por síntesis gradual, aun cuando no se ha llegado aún a la sacarosa.—C. B.

organismo animal como al organismo vegetal, se originan igualmente en el ejercicio del fenómeno clorofiliano: bajo su influencia, la molécula orgánica entra en combinación con el *nitrógeno mineral* de los nitratos o de las sales amoniacales que la planta ha tomado del suelo. En la obscuridad, la planta verde no asimila el nitrógeno, ya proceda éste de la atmósfera en estado de simple gas, ya haya sido tomado del suelo en forma nítrica o amónica.

Se ve, pues, en esta corta reseña, el gran interés que presenta el conocimiento del fenómeno clorofiliano. Lo estudiaremos por el orden siguiente: *leyes del fenómeno, naturaleza y proporciones de los gases cambiados; separación de la función clorofiliana de la respiración; teoría de la función clorofiliana; influencia de los agentes exteriores en esta función* (luz, calor). Hablaremos luego muy sumariamente de la nutrición de las plantas desprovistas de clorofila, y pondremos de manifiesto que ciertos vegetales verdes pueden, en condiciones especiales, nutrirse a expensas de materias ternarias puestas a su disposición.

Historia.—Existen en los escritos de Malpighi (1671) y en los de Hales (1748), párrafos que no ofrecen duda de que estos dos sabios habían entrevisto el papel de las hojas en la nutrición del vegetal. Pero, a Bonnet, de Ginebra (1754), es a quien se debe la observación fundamental de que, inmergidas en el agua ordinaria, las hojas verdes desprenden un gas a la luz solar, mientras que inmergidas en un agua previamente hervida no desprenden gas alguno, aun cuando estén expuestas a un sol ardiente.

Priestley fué el primero en reconocer la naturaleza del gas que se desprende de las hojas en el experimento de Bonnet, cuyos trabajos, por otra parte, parece que desconocía. Después de haber estudiado las modificaciones que sufre el aire cuando permanecen algún tiempo los animales en una atmósfera confinada, se preguntó si las plantas tenían alguna acción sobre la atmósfera (1771). En opinión de Priestley, el *aire ordinario* debía ser necesario, tanto a la vida vegetal como a la vida animal, debiendo afectarlo de la misma manera los animales y las plantas: así, observó con sorpresa que un vegetal, después de permanecer largo tiempo en una atmósfera donde ya había vivido un animal, era capaz de regenerarla y que el nuevo gas mantenía la respiración animal. La conclusión de Priestley fué de que existía un *antagonismo respiratorio* en los dos reinos vivos, y que la planta era capaz de contrabalancear los funestos efectos

que producen los animales en el aire que respiran. De todas maneras, algunos experimentos hechos después debilitaron las convicciones de Priestley; en efecto, a menudo las plantas y los animales se comportaban del mismo modo viciando el aire idénticamente.

Algunos años más tarde, Ingenhouse (1799) explica las anomalías observadas por Priestley: las plantas no convierten el aire atmosférico en *aire desflogisticado* (oxígeno) *más que bajo la influencia de la luz solar*. En la obscuridad no desprenden, como los animales, *más que aire impuro* (ácido carbónico). Por otra parte, las raíces, las flores, los frutos, nunca producen oxígeno, sino únicamente aire impuro, tanto a la luz como en la obscuridad. Por último, poco después, Sennebier puso claramente en evidencia la naturaleza del fenómeno, haciendo ver que el oxígeno desprendido de las partes verdes no tiene su origen en los mismos tejidos de la planta, sino más bien en el oxígeno del gas carbónico aéreo que estas partes verdes absorben. El oxígeno desprendido de la planta asoleada es el resultado de la misma actividad de la hoja y no procede únicamente de la superficie, según creía Bonnet.

Hay que llegar a los trabajos de Teodoro de Saussure *(Recherches chimiques sur la végétation,* París, 1804) para tener una idea precisa de la importancia del gas carbónico del aire. Las plantas en buen estado de vegetación, expuestas a la luz en una campana donde se halla un poco de cal apagada, no tardan en amarillear y morir, mientras que, si se las hace vegetar en atmósferas artificialmente provistas de gas carbónico, se desarrollan con lozanía. Habiendo absorbido la cal en el primer caso todo el gas carbónico, la planta no ha podido seguir desarrollándose. De Saussure observa también que no todas las especies de hojas tienen, en igual grado, el poder de descomponer el gas carbónico; las de las plantas carnosas *(Cactus),* no descomponen más que la quinta o la décima parte de la que pueden descomponer las hojas ordinarias.

No podemos insistir más en la historia de esta cuestión. Pero, se puede decir que los experimentos, tan notables y precisos para la época, hechos por Saussure, no llevaron a todos los fisiólogos la convicción de que el gas carbónico basta de por sí para la nutrición carbonada de una planta verde. La teoría del humus, que hemos recordado anteriormente, estaba demasiado arraigada en los espíritus para que no se concediese al suelo mismo una parte activa en los fenómenos de nutrición orgánica del vegetal. Sólo después de los trabajos de Liebig y de los experimentos hechos por instigación suya sobre el desarrollo de las plantas en *soluciones puramente minerales,* la doctrina del humus fué completamente abandonada y se consideró definitivamente a la atmósfera terrestre como la fuente exclusiva de donde las plantas verdes toman el carbono que necesitan.

II

LEYES DEL FENÓMENO, NATURALEZA Y PROPORCIONES DE LOS GASES CAMBIADOS

Los primeros experimentos realizados sobre el fenómeno clorofiliano fueron necesariamente experimentos *cualitativos*. Los investigadores buscaban cuál era la *naturaleza* del gas emitido y, faltos de métodos precisos en el análisis de las mezclas gaseosas, algunos de ellos habían deducido que existía un desprendimiento simultáneo de oxígeno, nitrógeno y aun de gases combustibles. Veremos luego cómo Boussingault (1859-1861) operó para precisar, tan exactamente como es posible, la naturaleza de los gases que se desprenden en el ejercicio de la función clorofiliana por una parte y, por otra, la relación que existe entre el volumen del gas carbónico absorbido y el del oxígeno exhalado. La idea directora en el experimento de Boussingault es la siguiente: importa conocer la naturaleza y la composición exacta, no sólo de los gases que están en contacto con la hoja, sino también de los que están contenidos en el parénquima de la misma hoja. Únicamente esta manera de operar es la correcta: nos permitirá saber si el desprendimiento de oxígeno va o no acompañado del desprendimiento de otro gas.

Es, efectivamente, muy difícil eliminar por completo el aire incluído en el parénquima de una hoja: Cloëz y Gratiolet, en 1851, hicieron el ensayo siguiente. En cierta cantidad de agua, privada de aire por la ebullición y conteniendo un poco de gas carbónico en disolución, estos autores introdujeron ocho tallos de *Potamogetum perfoliatus*. Estando expuesto el aparato a la luz, recogieron cada día los gases desprendidos. El primer día, 100 volúmenes de gas dieron 84,3 de oxígeno y 15,7 de nitrógeno; el segundo día, 86,21 de oxígeno y 13,79 de nitrógeno, y, por último, el tercer día, 97,1 de oxígeno y 2,90 de nitrógeno. Lo que parece demostrar que el gas oxígeno se purifica poco a poco expulsando gradualmente el nitrógeno contenido en la hoja.

Algunos experimentos preliminares, hechos en el mismo sentido, habían enseñado a Boussingault la dificultad con que se tropieza cuando se quieren expulsar de la hoja los últimos indicios de nitrógeno. Por esto resolvió no intentar esta eliminación de los gases y determinar su *totalidad (Ann. chim. et phys.* [3], 66-205 [1862]).

Se llenan de un volumen conocido de agua destilada, tres matraces de vidrio; esta agua destilada contiene el quinto de su volumen de un agua saturada de gas carbónico. Del aparato núm. 1 se extrae por ebullición la totalidad de los gases disueltos en el agua; del aparato núm. 2 se extrae inmediatamente la atmósfera del agua, así como la que está confinada en cierto número de hojas inmergidas en esta agua. El aparato núm. 3 contiene agua cargada de gas carbónico, como los aparatos 1 y 2, así como hojas cuya superficie es sensiblemente igual a las del aparato núm. 2. Este aparato núm. 3 es expuesto al sol durante cierto tiempo. Para terminar el experimento, se extraen los gases del agua y los que están contenidos en las hojas como en el experimento núm. 2. Se conocen, pues, rigurosamente la naturaleza y la cantidad de los gases iniciales; el tercer aparato da el resultado del ejercicio de la función clorofiliana. Se efectuaron 41 experimentos con las más diversas hojas: 15 de ellos dieron un volumen de oxígeno algo mayor que el del gas carbónico absorbido; lo contrario ocurrió en 13; en otros 13 hubo igualdad de volúmenes. Considerando el conjunto de los resultados como procedentes de un solo experimento, se encuentra que ha habido desaparición de 1 339,38 cm³ de gas carbónico y desprendimiento de 1 322,21 cm³ de oxígeno: lo que puede expresarse por la relación $\frac{CO^2}{O^2} = \frac{100}{98,75}$. No ha habido absorción ni emisión de nitrógeno gaseoso. ¿Expresa la relación que acabamos de señalar la *ley* del fenómeno clorofiliano? Ciertamente que no, porque el fenómeno de cambio gaseoso observado por Boussingault no es más que la *resultante* del fenómeno asimilador, por una parte, y del fenómeno respiratorio por otra. En efecto, la planta, aun sometida a la acción solar, ha continuado respirando, y el gas

carbónico que ha descompuesto procede de dos fuentes: el que encuentra en la atmósfera que la rodea y el que ha producido por su respiración. Volveremos más adelante a este punto y veremos, con ayuda de recientes experimentos de Maquenne y Demoussy, que el *verdadero* valor del cociente clorofiliano es igual a la unidad.

Observemos, además, que, cuando se compara el volumen del gas carbónico descompuesto con el volumen del oxígeno emitido, en realidad se compara el volumen del oxígeno que entra en forma de gas carbónico con el volumen del oxígeno que sale en estado de libertad, exento del carbono con el cual estuvo combinado. Recordaremos que el gas carbónico contiene su propio volumen de oxígeno.

Para que la hoja descomponga el gas carbónico, no es necesario que exista previamente oxígeno en la atmósfera en que se encuentra esta hoja. Según Boussingault, una hoja asoleada descompone el gas carbónico cuando éste está mezclado con cualquier gas: nitrógeno, hidrógeno, gas de los pantanos. Sin embargo, parece que la presencia de otro gas distinto del gas carbónico sea necesaria para *distanciar* en cierto modo las moléculas de este último o, dicho en otros términos, para disminuir su presión. En efecto, Boussingault había observado que, si se exponen a la misma iluminación dos aparatos que contengan, el uno una hoja inmergida en gas carbónico puro y el otro una hoja en aire que tenga solamente una pequeña cantidad de este gas, la descomposición es más rápida en el segundo caso que en el primero.

El gas carbónico debe estar en contacto con la hoja a fin de que se efectúe su descomposición.—Si se supone una planta completamente separada del aire ambiente, con sus hojas en una atmósfera absolutamente desprovista de gas carbónico y teniendo sus raíces en un suelo muy rico de humus y, por consiguiente, en gas carbónico, la asimilación clorofiliana no se efectuará, aun expuesta la planta a la luz solar. Resulta esto de los experimentos hechos por Saussure, Boussingault y de Cailletet.

A Mohl (1877) se debe una demostración de este hecho. Ponía en recipientes bien cerrados y transparentes una o más hojas de una planta, cuyo resto del sistema foliáceo permanecía en contacto con el aire exterior. Las hojas así substraídas del contacto con el

aire no producían fécula, o bien la producción de ésta quedaba estacionaria, mientras que las demás hojas, dejadas en las condiciones normales, continuaban elaborando fécula.

De todos modos, dado que los vasos del tallo impregnados de líquido disuelven el gas carbónico procedente de la respiración de las raíces, es posible, como ha sido comprobado, que las hojas, privadas del contacto con la atmósfera en el experimento de Mohl, asimilen un poco de este gas y originen una pequeña cantidad de fécula. La proporción de este hidrato de carbono es menos considerable en este último caso que cuando las hojas se extienden libremente en el aire.

Pero, en cambio, las partes de una planta sometidas a la acción de la luz pueden alimentar a otras partes de la misma planta situadas en la obscuridad: éstas pueden florecer y fructificar. Tal hecho ha sido demostrado por Sachs, quien ha podido así obtener frutos de *Cucurbita* en un espacio cerrado completamente obscuro.

III

VÍAS POR LAS CUALES SE EFECTÚAN LOS CAMBIOS GASEOSOS

Entre las células epidérmicas del tallo y de las hojas se encuentran pequeñas aberturas formadas por dos células que dejan entre sí un estrecho orificio. Estas aberturas reciben el nombre de *estomas* (1): su papel consiste en asegurar los cambios gaseosos entre la planta y la atmósfera (gas carbónico, oxígeno, vapor de agua). Estos estomas son numerosos en las plantas arborescentes; se pueden contar muchos centenares en 1 mm^2 de superficie. Faltan en el nivel de los nervios. En muchas plantas están localizados sólo en una de las caras de la hoja (la cara inferior en los árboles de hojas resistentes). A veces los hay en las dos caras: sin embargo, la inferior los contiene en mayor número (plantas herbáceas): otras veces están en igual proporción en las dos caras. No existen estomas (o en tal caso hay pocos) en las plantas

(1) No es difícil la observación de los estomas. Basta para ello un microscopio de mediano aumento. Puede hacerse la observación arrancando un poco de la epidermis de una hoja (por ejemplo, de *Iris*) y examinándola en el seno del agua entre el porta y el cubreobjetos.—C. B.

sumergidas; en las hojas flotantes, cuya cara superior solamente está en contacto con el aire atmosférico (nenúfar), únicamente esta última contiene estomas.

Los estomas tienen una gran importancia en la absorción del gas carbónico: pero, este papel no es exclusivo. La cutícula que recubre la epidermis de la hoja también interviene y aun sola desempeña un papel activo cuando los estomas faltan.

Los estomas han sido considerados durante mucho tiempo como aberturas que sirven sobre todo para el paso del vapor de agua en la transpiración. Sin embargo, Sennebier consideraba a estos órganos como puertas de entrada del gas carbónico. En realidad, esto es lo que han demostrado un gran número de observaciones.

Entre las investigaciones más importantes hechas sobre esta cuestión, deben mencionarse las de Boussingault. Este estudia la acción comparada de la luz en las caras opuestas de una hoja situada dentro de una mezcla de aire y gas carbónico. Para ello, pega una hoja de papel negro en la cara cuya influencia quiere anular. He aquí el resumen de sus observaciones.

La cara superior de una hoja de *laurel cerezo* determina una descomposición del gas carbónico más intensa que la cara inferior. Al sol, la mayor diferencia ha sido en la relación de 4 a 1, y la menor en la relación de 1,5 a 1; la relación media es igual a $\frac{102}{44}$. En la sombra, la diferencia es menor; no pasa la relación de 2 a 1. Las hojas de parénquima muy delgado, pero cuyas dos caras tienen matices tan marcadamente distintos que puede decirse que el limbo no está teñido de verde más que en la cara superior, han dado resultados análogos a los de las hojas más gruesas.

Resultaría, pues, de los experimentos de Boussingault que, bajo la influencia de la luz, la cara superior de las hojas actuaría sobre el gas carbónico con mucha más energía que la inferior. Como la cara superior de las hojas estudiadas *(adelfa, laurel cerezo, castaño)* está casi desprovista de estomas, puede sorprender esta descomposición; pero, como dice Boussingault, se explica el hecho considerando que las plantas acuáticas, los *Cactus,* la epidermis de los frutos verdes y carnosos, aunque desprovistos de estomas, reducen sin embargo el gas carbónico. Volveremos a tratar de estas anomalías en contradicción con los experimentos más antiguos de Garreau (1850) respecto del papel de los estomas. Por otra parte, debe observarse que, cada vez que se pone una dificultad a la pene-

tración y, por consiguiente, a la salida del gas de la hoja. ya sea pegando en una de sus caras una hoja de papel, ya sea embadurnándola con una materia grasa o con vaselina, como se ha hecho frecuentemente en este género de investigaciones, se eliminan condiciones fisiológicas, y el resultado observado es de difícil interpretación. Según Griffon (1902), la hoja de papel negro de los experimentos de Boussingault, no solamente impide el acceso de la luz, sino que se opone a los cambios gaseosos y, como éstos no son los mismos al través de las dos epidermis, resulta de ello que el trabajo interno de descomposición del gas carbónico se halla desigualmente dificultado cuando se hace impermeable la cara superior o la cara inferior de una hoja. Es recomendable emplear para estos experimentos campanas aplanadas, una de cuyas caras está ennegrecida de manera que pueda iluminarse a voluntad una u otra cara de la hoja, sin suprimir el paso de los gases a su través.

La opinión de Boussingault fué confirmada por las investigaciones de Barthélemy (1874). Este demostró que las hojas son atravesadas por los gases de la atmósfera con velocidades comparables a las que Graham había indicado para el caucho: parece, pues, que los estomas no desempeñan más que un papel secundario en el fenómeno de cambios gaseosos y que estos cambios se efectúan sobre todo por ósmosis a través de la cutícula.

Mangin, para hacer más resistentes los fragmentos de cutícula con que operaba, los recubría de una solución caliente de gelatina glicerinada, substancia que, según él, no ofrece resistencia apreciable al paso de los gases y que tiene la ventaja de cerrar los estomas. Mangin obtiene por este método resultados análogos a los de Berthélemy; pero, observa que las cantidades de gas que pueden así atravesar la cutícula son insuficientes para subvenir las necesidades de la respiración y de la asimilación: los estomas deben ser, pues, importantes vías de paso de los gases, sobre todo durante la asimilación.

A Blackmann (1895) es a quien se debe la explicación de las anomalías presentidas en los experimentos de Boussingault y en los de todos los experimentadores que han atribuído a la absorción por la cutícula un papel preponderante, siendo así que, en las condiciones normales, los estomas constituyen la sola vía importante para la entrada y la salida de los gases.

El aparato, algo complicado, empleado por Blackmann, permite estudiar la absorción o el desprendimiento del gas carbónico por una hoja entera, por una sola de sus caras o por las dos caras por separado. pero en un mismo momento. Para estudiar la naturaleza y la proporción de los gases resultantes del fenómeno respiratorio, se hace llegar al aparato aire privado de gas carbónico: para estudiar la asimilación se emplea aire normal o cargado de una proporción conocida de gas carbónico.

Los experimentos de Blackmann enseñan claramente que el paso

de los gases a través de la hoja está *en estrecha relación con la presencia y el número de estomas que existen en las caras de las hojas.* Las hojas cuya cara superior no lleva estomas desprenden una cantidad insignificante de gas; el desprendimiento gaseoso sólo se realiza por los numerosos estomas de la cara inferior. Cuando el número de estomas es el mismo en las dos caras, el desprendimiento gaseoso es sensiblemente igual en estas dos caras. Así, el acuerdo entre la distribución de los estomas y las cantidades de gases emitidos es tan satisfactorio como es posible. Los estomas constituyen, pues, los únicos pasos para la salida de los gases, cualesquiera que sean la edad de las hojas y su espesor.

Si se quisiera sostener todavía que el paso de los gases puede efectuarse a través de la cutícula que recubre la epidermis, y no por los mismos estomas, sería preciso admitir que, en el caso de las hojas en las cuales los cambios gaseosos son notablemente más intensos en la cara inferior que en la superior, la cutícula de esta cara inferior debía ser infinitamente más permeable para los gases que la de la superior. Pues bien, si existe mayor permeabilidad en la cutícula de la cara inferior de muchas hojas, comparada con la de la cara superior, la diferencia es, sin embargo, demasiado pequeña para explicar el hecho constante de un desprendimiento gaseoso cincuenta y aun cien veces mayor en la cara inferior de una hoja que lleve estomas, cuando la cara superior de la misma carece de ellos.

Falta explicar las contradicciones que existen entre los resultados obtenidos por Blackmann y los de Boussingault. Este último, como hemos visto anteriormente, había observado que la cara superior de la hoja de adelfa, por ejemplo, descomponía, a pesar de su falta de estomas, una cantidad de gas carbónico mayor que la cara inferior que los contiene. Blackmann cree que los resultados obtenidos por Boussingault deben atribuirse a grandes proporciones de gas carbónico (30 por 100 en la mezcla gaseosa) que este químico había empleado y que debían retardar la asimilación. El óptimo de concentración del gas en general está alrededor del 8 por 100. En las condiciones de una hoja con los estomas cerrados artificialmente por una materia grasa, o en el caso de la cara de una hoja desprovista de estomas, una mezcla gaseosa rica en gas carbónico penetraría lentamente; el gas descomponible no se encontraría nunca en notable exceso, y la asimilación se efectuaría en condiciones más favorables.

Cuando una atmósfera determinada contiene un gran exceso de gas carbónico, los estomas dejan penetrar tal proporción de este gas que las células de clorofila en cierto modo quedan asfixiadas y no le descomponen ya o, a lo menos, le descomponen muy imperfectamente.

Parece que, en realidad, así ocurre. Si se ponen separadamente en tubos que contengan aire con 26 por 100 de gas carbónico, dos hojas muy parecidas, una normal y otra con la cara superior (despro-

vista de estomas) embadurnada de vaselina, se encuentra que la asimilación es la misma en los dos casos; lo que demuestra que la cara desprovista de estomas no desempeña ningún papel en la asimilación. Además, en una serie de experimentos, Blackmann, empleando mezclas gaseosas con 6 a 97 por 100 de gas carbónico, compara dos hojas parecidas, una normal y otra cuyos estomas de la cara inferior están obturados con vaselina. De esta comparación resulta de un modo muy claro que, mientras hay en la mezcla gaseosa una proporción de ácido carbónico relativamente escasa (que no exceda del 15 por 100), la hoja con estomas libres asimila mejor que la hoja con los estomas obturados. Más allá ocurre lo contrario: cuando la atmósfera es más rica en gas carbónico, o se encuentra en el caso de los experimentos de Boussingault, la hoja con los estomas tapados asimila mejor que la otra.

Los resultados obtenidos por Boussingault se refieren también al hecho de que este sabio hacía entrar en cuenta la *iluminación* de una u otra cara de la hoja. Según hemos dicho antes, siendo iguales las demás circunstancias por otra parte, la asimilación se efectúa mejor cuando es iluminada la cara superior, porque esta cara absorbe, en general, mejor la luz que la cara inferior.

En resumen, los estomas constituyen las solas vías de paso de los gases en las condiciones normales; si los estomas están cerrados, el gas carbónico penetra por ósmosis a través de la cutícula cuando, de todos modos, la tensión de este gas es suficiente. Pero, como esta tensión es extremadamente débil en la atmósfera que nosotros respiramos, la ósmosis es poco apreciable, y la hoja cuyos estomas están cerrados no puede asimilar (a lo menos en las plantas aéreas).

IV

FUNCIÓN CLOROFILIANA SEPARADA DE LA RESPIRACIÓN

La asimilación clorofiliana se manifiesta por un aumento del peso seco del órgano y, como hemos visto, por un desprendimiento de oxígeno. La relación entre el gas carbónico absorbido y el oxígeno emitido $\frac{CO^2}{O^2}$ es próxima a la unidad, según los experimentos de Boussingault. Pero, aun cuando esté vivamente iluminada por los rayos solares, la planta verde no deja de *respirar*, es decir, de quemar cierta cantidad de materiales hidrocarbonados que había acumulado

durante la asimilación. Esta respiración va acompañada de desprendimiento de gas carbónico. De manera que el fenómeno observado a la luz solar no es más que una *resultante* de dos fenómenos opuestos: uno en el cual hay destrucción del gas carbónico con producción de oxígeno; otro, superpuesto al primero, en el cual el oxígeno exterior, que penetra en los tejidos del vegetal, consume los hidratos de carbono y sale finalmente en estado de gas carbónico. A la luz solar, se observa que la función clorofiliana predomina sobre la función de combustión, pero no se sabe en qué grado. Se trata, pues, de intentar averiguar la parte que corresponde a la sola función de asimilación.

Claudio Bernard fué el primero que, empleando anestésicos, tuvo la idea de separar el resultado de los cambios gaseosos que provoca la asimilación clorofiliana del que procede de los cambios atribuíbles al fenómeno respiratorio. Con este objeto, se llenan de agua cargada de gas carbónico dos campanas de llave en las cuales se ponen las hojas de una planta acuática *(Potamogeton)*. Al lado de las hojas contenidas en una de las campanas, se introduce una pequeña esponja impregnada de cloroformo, y se exponen luego los dos aparatos al sol. Si, al cabo de cierto tiempo, se analizan los gases que se han desprendido en cada una de las campanas, se encuentra que los de la primera, que no contenía cloroformo, consisten en oxígeno y nitrógeno (procedente éste del aire disuelto en el agua); los de la segunda (con cloroformo), mucho menos abundantes, contienen una mezcla de gas carbónico y nitrógeno. Resulta de esto que, bajo la influencia del anestésico, *las hojas solamente han respirado;* la asimilación, en este caso suspendida, se ha efectuado, en cambio, libremente en la campana sin cloroformo. Lavadas con mucha agua, las hojas sometidas a la acción del cloroformo son capaces posteriormente de descomponer el gas carbónico: lo que prueba que la facultad de asimilación ha persistido en estas hojas y que esta función no ha sufrido más que un paro momentáneo.

Bonnier y Mangin (1886) han repetido este experimento, convirtiéndolo en cuantitativo. Dos vasos de la misma capacidad, que contienen fragmentos iguales y del mismo peso de plantas semejantes, reciben volúmenes conocidos de aire; en uno de los recipientes se introducen algunas gotas de éter. Dejando cierto tiempo las dos campanas en la obscuridad se asegura de que la *naturaleza* del fenómeno respiratorio no ha cambiado, y de que la *intensidad* del fenómeno no varía. En efecto, el cociente respiratorio $\frac{CO^2}{O^2}$ (relación entre el gas carbónico desprendido y el oxígeno absorbido)

tiene el mismo valor en los dos casos. Observemos de paso que esta relación siempre era inferior a la unidad. El volumen del gas carbónico desprendido es el mismo en los dos aparatos. Por lo tanto, para una cantidad determinada de anestésico, el fenómeno respiratorio no queda atenuado, ni modificado en su esencia. Luego se exponen al sol las dos campanas, en la atmósfera de las cuales se introduce cierta proporción de gas carbónico que la función clorofiliana utilizará. Al cabo de algún tiempo se analizan los gases desprendidos en una y otra. En la campana sin anestésico, el volumen del gas carbónico ha disminuído, mientras que el de oxígeno ha aumentado; en la otra campana, donde la asimilación está suspendida, ocurre lo contrario. Como el fenómeno respiratorio ha seguido siendo el mismo en los dos casos, basta comparar los análisis de la atmósfera de cada recipiente después de la exposición a la luz.

Método de la exposición sucesiva en la obscuridad y a la luz.—Bonnier y Mangin han demostrado que, en las plantas desprovistas de clorofila, la *naturaleza* del fenómeno respiratorio no está influída por la iluminación: la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ sigue igual en la luz y en la obscuridad. Pero, la *intensidad* respiratoria queda siempre debilitada cuando se lleva la planta de la obscuridad a la luz. Dichos autores suponen que la influencia de la iluminación es la misma en todas las plantas, tanto si contienen como si no contienen clorofila. Bastará, pues, restar de la totalidad de los volúmenes gaseosos, emitidos y absorbidos por las plantas expuestas a la luz, los volúmenes gaseosos que habrían debido emitir por respiración bajo la misma luz. Dispuestas las plantas en un recipiente apropiado, permanecerán un tiempo suficiente en la obscuridad; se hará un análisis de los gases después de este primer ensayo; se expondrá luego el aparato a la luz solar durante el mismo tiempo y a la misma temperatura. Estos dos experimentos sucesivos permiten calcular el verdadero volumen de los gases que han participado en la asimilación, admitiendo que la intensidad del fenómeno respiratorio haya disminuído, bajo la influencia de la luz, en proporciones determinadas por anteriores ensayos. Este segundo método ha suministrado relaciones $\frac{CO^2}{O^2}$ muy próximas a las que habían sido obtenidas por el método de los anestésicos.

Los resultados generales de estas investigaciones conducen a la siguiente conclusión: que el volumen total del oxígeno desprendido en la asimilación clorofiliana es, en las plantas examinadas, superior al volumen del gas carbónico que éstas han absorbido. Notemos que, en todos estos experimentos, el análisis de los gases siempre se ha efectuado tomando sólo una pequeña muestra de la masa gaseosa total. Vamos a ver cuáles son las críticas que ha suscitado esta manera de operar.

Experimentos de Maquenne y Demoussy (1912).— En realidad, en los experimentos anteriores, Bonnier y Mangin deducen el valor del cociente clorofiliano *real* del valor del cociente respiratorio. En seguida se presenta una objeción. Si este último cociente está afectado de algún error, el primero quedará forzosamente mal definido. En efecto, si el cociente respiratorio ha sido encontrado menor que la unidad—y éste es el caso en casi todos los experimentos de Bonnier y Mangin,—resulta que el cociente clorofiliano será mayor que la unidad.

Pues bien, según veremos a continuación, a propósito del estudio de la respiración, el cociente respiratorio, tal como lo da el método de Bonnier y Mangin, *es siempre inferior al cociente real*. En efecto, es indispensable—y más adelante insistiremos en este punto—extraer del espacio donde las hojas han respirado, *no solamente la totalidad de los gases exteriores al órgano, sino también los que están condensados o que permanecen disueltos en el parénquima de este órgano*. Como el gas carbónico es incomparablemente más soluble en el agua, y sobre todo en los líquidos que impregnan la hoja, que el gas oxígeno, es claro que, cuando se toma, para hacer un análisis, una pequeña muestra solamente de los gases de la atmósfera que rodea al órgano, se comete un error, a veces enorme, en la apreciación de la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ entre el gas carbónico desprendido realmente y el oxígeno consumido. Esta relación es inferior a la verdadera, porque el término CO^2 es inferior a su valor real.

Esto es lo que demuestran Maquenne y Demoussy, cuyos experimentos expondremos en su lugar, a propósito de la respiración. Pero, conviene, aquí también, poner de manifiesto las muy interesantes consecuencias que los citados autores han deducido, desde el punto de vista del conocimiento exacto de la relación clorofiliana, de la determinación rigurosa de los gases cambiados durante la respiración.

Supongamos, pues, por adelantado, que poseemos un método correcto que permita averiguar el *verdadero valor* del cociente respiratorio. Maquenne y Demoussy, después de

haber demostrado que éste es *casi siempre superior a la unidad,* determinan de la siguiente manera el cociente clorofiliano *en bruto,* es decir, la relación entre los volúmenes del oxígeno desprendido a la luz y del gas carbónico absorbido, sin tener en cuenta la parte que corresponde al fenómeno respiratorio concomitante.

Se hace el vacío en un pequeño tubo de llave de unos 50 cm³ de cabida, en el cual se ha introducido previamente cierto peso de hojas verdes. Luego se deja entrar en este tubo una mezcla de composición bien conocida, de aire y gas carbónico (8 a 10 por 100); se vuelve a hacer el vacío, luego se introduce de nuevo la misma mezcla gaseosa a una presión tan próxima como sea posible a la presión atmosférica. Entonces se expone el tubo a la luz debajo de una capa de agua, a temperatura constante. Al cabo de cierto tiempo se extrae, haciendo el vacío, la totalidad de los gases del tubo, se efectúa su análisis y, como se conoce la composición de la mezcla gaseosa inicial, se deduce fácilmente la expresión $\frac{O^2}{CO^2}$, es decir, el cociente clorofiliano *en bruto.*

Comparemos los valores de algunos de estos cocientes con los de los cocientes respiratorios *normales* en las mismas plantas, en las mismas condiciones de tiempo y de temperatura:

	$\frac{CO^2}{O^2}$	$\frac{O^2}{CO^2}$		$\frac{CO^2}{O^2}$	$\frac{O^2}{CO^2}$
Adelfa . . .	1,05	1,01	Crisantemo .	1,02	1,01
Ailanto . .	1,08	1,02	Dalia . . .	1,07	1,07
Aligustre . .	1,03	1,02	Guisante . .	1,07	1,04
Aspidistra. .	0,97	1,00	Lila . . .	1,07	1,03
Aucuba . .	1,11	1,10	Maíz . . .	1,07	1,05
Azucena . .	1,07	1,00	Peral. . . .	1,10	1,08
Begonia . .	1,11	1,03	Tabaco. . .	1,03	1,04
Bonetero . .	1,08	1,02	Trigo . . .	1,02	1,01
Clavel . . .	1,09	1,09			

Se ve que, en cada especie, los dos cocientes son del mismo orden de tamaño. Además, los citados autores han observado que, cada vez que el cociente respiratorio $\frac{CO^2}{O^2}$ es

inferior a la unidad, se encuentra igualmente un cociente clorofiliano $\frac{O^2}{CO^2}$ menor que la unidad, pero acercándose más a ella que el cociente respiratorio.

La acción de la luz tiene, pues, como efecto habitual, atenuar la influencia de la respiración y aproximar a la unidad el cociente característico de los cambios gaseosos en la obscuridad. Maquenne y Demoussy llegan a la conclusión de que tal influencia no puede ser general más que si el cociente clorofiliano *real* posee de por sí un valor bien determinado y sensiblemente constante. Suponiendo que es el mismo para todas las especies, dichos autores lo calculan de la siguiente manera:

Sean $\frac{CO^2}{O^2} = \frac{a}{b} = m$ la ecuación de la función respiratoria, c y d los volúmenes absolutos de oxígeno y de gas carbónico cambiados durante la asimilación clorofiliana actuando sola. El cociente clorofiliano en bruto que suministra el experimento tiene por expresión $\frac{c - b}{d - a}$.

Según el cuadro anterior, este valor debe estar comprendido entre 1 y m; y se tiene para $m > 1$:

$$m > \frac{c - b}{d - a} > 1.$$

Pero, si $m' < 1$, se tendría:

$$m' < \frac{c - b}{d - a} < 1.$$

En el caso más general en que m es mayor que 1, se tendrá:

$$\frac{c - b}{d - a} > 1.$$

Y, como $a = m\,b$, resulta:

$$c - b > d - mb,$$

o bien:

$$mb - b > d - c.$$

Dividiendo por *d*, se tiene:

$$\frac{b}{d}(m-1) > 1 - \frac{c}{d}.$$

Y, si $m' < 1$, se tendrá, por el contrario:

$$1 - \frac{c}{d} > \frac{b}{d}(m'-1).$$

Por consiguiente, la relación $\frac{b}{d}$ entre el oxígeno tomado por la respiración y el gas carbónico absorbido por la asimilación, así como la diferencia $m - 1$, son siempre muy inferiores a la unidad. Como estas relaciones subsisten aún cuando el producto $\frac{b}{d}(m - 1)$ es, aproximadamente, inferior a 0,01, resulta que el valor $1 - \frac{c}{d}$, a la vez más pequeño que una cantidad positiva y mayor que una cantidad negativa, convergiendo ambas hacia 0, se acerca mucho a ser nulo. El cociente clorofiliano es, pues, extremadamente próximo, si no igual a la unidad.

Por lo tanto, se puede formular la proposición siguiente: *en la asimilación clorofiliana separada de la respiración, el volumen del oxígeno que se desprende es igual al volumen de gas carbónico que se descompone:* $\frac{O^2}{CO^2} = 1$.

Resulta de esto que este cociente no oscila alrededor de la unidad con diferencias más o menos grandes en más o en menos, como creía Boussingault, y que no siempre es superior a la unidad, según se deduce de los experimentos de Bonnier y Mangin.

Cambios de gases de las plantas enteras. —Se objetará a los experimentos precedentes que éstos sólo se refieren a fragmentos vegetales, y que la asimilación clorofiliana solamente ha sido estudiada durante un corto número de horas. Además, los trabajos de Boussingault se aplican a

plantas que, viviendo habitualmente en el aire, se encuentran momentáneamente inmergidas en el agua.

Schlœsing hijo (1892, 1893, 1900) ha logrado cultivar debajo de campana, en atmósferas de composición exactamente conocida, una serie de vegetales (*tino*, *sorgo*, *capuchina*, *diversas algas*, etc.) durante muchas semanas. Los aparatos que empleó permiten introducir a voluntad gas carbónico en cantidad medida y, recíprocamente, eliminar una parte de los gases de la campana (oxígeno) cuando éstos llegan a ser demasiado abundantes. A fin de no verse obligado a tener en cuenta los desprendimientos gaseosos del suelo cuando se emplea tierra vegetal, el autor empleó como sostén de las plantas arena cuarzosa previamente calcinada. Esta arena estaba mojada con soluciones salinas (fosfatos, sulfatos, sales de hierro, etc.) indispensables a la nutrición mineral de las plantas, cuyas semillas habían sido previamente esterilizadas. Al terminar el experimento se encuentra que las plantas enteras han desprendido en volumen *más oxígeno que gas carbónico han descompuesto*, es decir, *que han desprendido más oxígeno en estado libre del que contenía el gas carbónico por ellas absorbido*.

El exceso de oxígeno desprendido se debe especialmente a la *reducción de las sales minerales* procedentes del suelo. Schlœsing hijo ha cultivado comparativamente plantas (*alforjón*, *capuchina*) en soluciones que contenían, ya nitratos, ya sales amoniacales, no pudiendo éstas nitrificar a causa de las precauciones tomadas (veremos más adelante que el nitrógeno amoniacal constituye un alimento tan perfecto como el nitrógeno nítrico). Por lo tanto, cuando se reemplaza el nitrógeno nítrico por el nitrógeno amoniacal, es de esperar ver disminuir el exceso de oxígeno respecto del gas carbónico: esto es lo que efectivamente ocurre; este exceso de oxígeno puede ser entonces muy escaso.

Resulta de esto que los cambios gaseosos que acompañan a la formación de la materia vegetal *están en estrecha relación con la composición mineral de las soluciones contenidas en el suelo*, a las cuales la planta toma sus elementos fijos, es decir, los elementos que constituyen las cenizas después de la combustión. La planta es, pues, esencialmente un *aparato de reducción*. El exceso de oxígeno que se encuentra en la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ procede sobre todo del oxígeno de los nitratos y también de otras sales oxigenadas, tales como fosfatos y sulfatos, indispensables a la vida normal del vegetal.

Estas nociones son muy importantes: nos enseñan, por el simple análisis de los gases cambiados, qúe el azufre y el fósforo, si existen en pequeña cantidad en los tejidos vegetales en forma de sulfatos y de fosfatos, deben figurar en ellos sobre todo en forma de compuestos sulfurados o fosforados orgánicos: esto es lo que comprueba la experiencia. Hablaremos de ello más adelante.

Asimilación clorofiliana en presencia de un exceso de gas carbónico.—De Saussure había observado que, si se enriquece artificialmente en gas carbónico la atmósfera en que se halla una planta expuesta al sol, esta planta desprende una mayor cantidad de oxígeno. Sin embargo, más allá de cierta proporción, el gas carbónico es dañoso a la asimilación. Hemos indicado anteriormente las dificultades que determinaba un exceso de ácido carbónico respecto de la penetración de este gas por los estomas. La proporción de $\frac{1}{12}CO^2$ en una atmósfera artificial pareció a de Saussure realizar el óptimo de concentración.

Entre las causas de amortiguamiento de la función clorofiliana debidas a la presencia de un exceso de gas carbónico, debe incluirse el retardo producido en la formación de la misma clorofila (Boehm). Añadamos que no todas las plantas se comportan de la misma manera en este concepto, y que, si el óptimo de concentración es de 10 por 100 para algunas de ellas, para otras, por el contrario, puede ser más bajo o, a veces, más elevado. Bajo la influencia de grandes proporciones de gas carbónico la transpiración disminuye. Es cierto que las plantas pueden asimilar más activamente cuando la proporción de este gas es superior a la en que se halla en el aire normal; pero, aun cuando este exceso no parezca dañar a la planta, no existe, generalmente, proporcionalidad entre la cantidad de gas existente en la atmósfera artificial y el valor de la asimilación, sobre todo en el caso en que la proporción del gas carbónico alcanza una cifra bastante elevada, no comparable con la proporción habitual que la planta encuentra en el aire normal.

Esto es lo que demuestran los experimentos de Kreusler (1885) efectuados con hojas de hojaranzo, a una temperatura de 25° y con una iluminación constante. Si se considera como igual a 100 el valor de la asimilación en el aire ordinario (que no contiene más que $\frac{3}{10000}$ de gas carbónico), este valor pasa a ser igual a 209 para una riqueza en gas carbónico de 0,5 por 100, llega a 237 para una riqueza

de 1 por 100 y a 266 para una riqueza de 14,5, o sea unas 450 veces más de ácido carbónico que el que existe en el aire normal. Así, para la riqueza del 1 por 100 casi se alcanza el máximo de asimilación.

Sin embargo, según Brown y Escombe, la proporcionalidad de que acabamos de hablar parece existir cuando las proporciones de gas carbónico de la atmósfera artificial son poco superiores a la proporción normal, pero en todo caso muy inferiores a 1 por 100.

Dehérain y Maquenne (1881) han demostrado que, entre los fenómenos anormales que se observan cuando ciertas plantas viven en una atmósfera rica en gas carbónico, el más notable se manifiesta por una acumulación de fécula, acumulación que no es de ninguna utilidad para la planta, porque esta fécula queda donde se forma y no emigra. Es fácil, operando en estas condiciones con el tabaco, separar este hidrato de carbono mediante un simple lavado de las hojas de la planta, como se hace cuando se quiere separar la fécula de las patatas. Esta extremada abundancia de fécula había sido atribuída primero al vapor de agua que satura constantemente la atmósfera de la campana en que vegeta la planta. Pero, cuando se efectúa el experimento haciendo entrar en el aparato, no aire enriquecido artificialmente en gas carbónico, sino simplemente aire ordinario, no se produce ya la acumulación de fécula, aun cuando la atmósfera continúe saturada de vapor de agua.

En las condiciones naturales no se puede enriquecer a voluntad el aire atmosférico en gas carbónico. Sin embargo, hay casos en que este enriquecimiento se efectúa espontáneamente. Esto es lo que ocurre debajo de una vitrina de un semillero con abundancia de estiércol. El volumen de la atmósfera así confinada contiene siempre más gas carbónico que el aire exterior, y las plantas se aprovechan de él. No es el amoníaco gaseoso, desprendido en pequeñas porciones, quien actúa entonces comunicando a la vegetación mayor lozanía, sino únicamente el gas carbónico, como se ha podido comprobar deteniendo los vapores amoniacales de la tierra y no dejando desprender más que ácido carbónico (Demoussy).

Hansen (1912) ha observado que el crecimiento de las plantas de prado era especialmente intenso en las cercanías de las fuentes naturales de gas carbónico.

Una gran parte de los fracasos notados antes en las plantas que se hacían vegetar en atmósferas ricas en ácido carbónico, procede de que este gas, desprendido del mármol por la acción del ácido clorhídrico, contiene, probablemente en *estado vesicular,* indicios de gas clorhídrico, que es imposible detener por un simple paso a través de agua en frascos lavadores. En efecto, a menudo las hojas están man-

chadas por pequeños puntos amarillos, prueba de que han sufrido los tejidos en estos sitios (Demoussy).

Pero, si se emplea gas carbónico puro, tal como lo desprende el bicarbonato sódico cuando se calienta, las plantas se aprovechan de este gas como se aprovechan del que se desprende debajo de vitrinas procedente de la fermentación del estiércol.

Influencia de la presión en la asimilación. — Acabamos de ver que ciertos vegetales asimilaban más activamente cuando la proporción de gas carbónico de la atmósfera donde se ponen era superior a la que se encuentra en el aire ordinario. Según Godlewski, en el aire confinado a la presión normal, la intensidad de la asimilación sería máxima para una proporción de 10 por 100 de gas carbónico; esta intensidad dependería de la presión relativa de este gas. J. Friedel ha examinado lo que ocurre en las hojas separadas del tallo en el caso en que la atmósfera en que estas hojas están inmergidas, enriquecida de 10 por 100 de gas carbónico, estuviese a una presión inferior a la normal. Ha encontrado que la disminución de la presión, aun hasta un cuarto de atmósfera, no modifica la *naturaleza* del fenómeno asimilador, porque el cociente $\frac{CO^2}{O^2}$ no cambia. Pero, la *intensidad* de la asimilación disminuye con la presión siguiendo una ley bastante regular. Si A representa el valor absoluto del fenómeno resultante para una hoja mantenida a la presión normal, y B el valor relativo a la hoja expuesta en la atmósfera enrarecida, la relación $\frac{B}{A}$ dará la medida de la acción de la presión en los cambios gaseosos de la hoja. Se encuentran números del mismo orden de valor en los diversos vegetales estudiados, cuya estructura y actividad clorofiliana presentan, sin embargo, grandes variaciones. En la segunda columna de la adjunta tabla, A representa la asimilación a la presión normal y se supone igual a la unidad:

	Presiones:	$\frac{B}{A}$
Ligustrum japonicum . . .	1 atm.	1,00
» » . . .	0,75 »	0,94
» » . . .	0,66 »	0,81
» » . . .	0,50 »	0,74
Ligustrum vulgare	0,50 »	0,78
Evonymus japonicus. . . .	0,50 »	0,73
Robinia pseudo-acacia . . .	0,50 »	0,73
Ruscus aculeatus	0,50 »	0,69

Asimilación clorofiliana en las plantas carnosas.—Las plantas de hojas gruesas, llamadas *plantas carnosas (cactáceas, mesembriatemos, crasuláceas)*, poseen un número de estomas muy

limitado: estas plantas transpiran poco, y de Saussure había observado que la asimilación clorofiliana era en ellas mucho menos intensa, a igualdad de superficie, que en las plantas de hojas delgadas. Observó también el siguiente y notable hecho: que una planta carnosa que había permanecido durante algún tiempo en la obscuridad, era capaz de desprender muchas veces su volumen de oxígeno cuando se la exponía al sol debajo de una campana *cuya atmósfera estaba completamente privada de gas carbónico.* Estas particularidades tan interesantes que presentan las hojas de parénquima grueso se relacionan con el estudio de la respiración: provisionalmente las dejaremos a un lado. Hablaremos de ellas, con los pormenores necesarios, cuando nos ocupemos en los fenómenos de oxidación en los vegetales.

Diremos solamente que el desprendimiento de oxígeno, en las condiciones que acabamos de mencionar, es debido a la presencia de *ácidos orgánicos* almacenados en la obscuridad y a baja temperatura por las plantas carnosas. Estos ácidos constituyen un producto de *oxidación incompleta* de los hidratos de carbono. A una temperatura más elevada, y en contacto con los rayos solares, el oxígeno oxida completamente los ácidos orgánicos con formación de gas carbónico. Pero, éste, en vez de desprenderse, es reducido por la clorofila con desprendimiento de oxígeno. Tal es la explicación de esta aparente anomalía, señalada primero por de Saussure, de un desprendimiento de oxígeno por una planta que vive en una atmósfera exenta de gas carbónico (véase más adelante).

Asimilación clorofiliana en las plantas acuáticas.— Cuando las hojas de estas plantas están sumergidas, no hay en ellas estomas: a veces existen estas aberturas, pero en muy corto número. Siendo el gas carbónico bastante soluble en el agua, las plantas que viven en este medio encuentran siempre una cantidad suficiente del mismo. Si el agua de lluvia es, por término medio, poco rica en gas carbónico, no ocurre lo mismo con las aguas de río o en las del mar, que se enriquecen de este gas por efecto de las muchas fermentaciones que se efectúan en las materias orgánicas que contienen. Cuando las aguas son calcáreas, contienen en disolución bicarbonato cálcico. Ciertas plantas acuáticas de agua dulce (algas de los géneros *Chara, Elodoea, Ceratophyllum,* etc.) o del agua del mar (algas del género *Corallina*) están recubiertas de una capa de carbonato cálcico que da a esta última planta en particular un marcado grado de rigidez: esto es debido a la asimilación clorofiliana que, disociando el bicarbonato cálcico, produce un depósito de carbonato neutro en la superficie del vegetal. Por lo demás, una planta acuática puede también descomponer una solución diluída de bicarbonato sódico, sal mucho más estable que el bicarbonato cálcico.

La introducción del gas carbónico en el parénquima de la hoja se efectúa aquí por simple *difusión* al través de la epidermis, ya que

faltan los estomas. Esta difusión gaseosa, mayor para el oxígeno que para el nitrógeno, es todavía mayor para el gas carbónico. Durante la asimilación clorofiliana de una hoja sumergida, el oxígeno que se pone en libertad, menos difusible que el gas carbónico, se acumula en los numerosos espacios intercelulares que presenta el parénquima de la hoja, y la presión aumenta poco a poco.

Cuando la concentración del gas carbónico aumenta en el medio líquido, el método de *recuento de las burbujas gaseosas* desprendidas permite comprobar que éstas son más numerosas y que su número crece poco más o menos proporcionalmente con la concentración del gas carbónico. La concentración óptima de este gas crece con la intensidad luminosa.

V

TEORÍA DE LA ASIMILACIÓN CLOROFILIANA

En lo que sigue debe distinguirse la observación de los hechos reales de las hipótesis más o menos verosímiles que sirven para interpretar estos hechos.

Sabemos, por una parte, que el *resultado en bruto* de la asimilación clorofiliana es el siguiente: 2 volúmenes de gas carbónico dan 2 volúmenes de oxígeno, y el carbono queda, en consecuencia, fijado en la planta. La observación microscópica enseña, además, que el grano de clorofila, por efecto de esta descomposición del gas carbónico, da origen casi siempre a fécula, hidrato de carbono de la fórmula $(C^6H^{10}O^5)^n$, que toma color azul en contacto con el yodo. Sabemos, por otra parte, que, cuando se tiene en cuenta, en los cambios gaseosos de la planta, el *fenómeno clorofiliano solo,* es decir, separado del acto respiratorio, el volumen del oxígeno desprendido es *casi siempre ligeramente superior* al volumen del gas carbónico absorbido.

Este exceso de oxígeno procede, como hemos visto, del oxígeno de los nitratos, sulfatos y fosfatos tomados del suelo por las raíces, y tenemos una prueba de ello en que, cuando no se da a las plantas como alimento nitrogenado más que sales amoniacales, el exceso de oxígeno es mucho menor y la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ se aproxima marcadamente a la unidad.

Para mayor simplicidad, podemos razonar como si la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ fuese siempre igual a 1.

Boussingault había supuesto que el gas carbónico se descomponía en $CO + O$. En efecto, el óxido de carbono no es descompuesto por la célula verde. Pero, en esta hipótesis, dos volúmenes de gas carbónico no producen más que un volumen de oxígeno: de donde resulta necesario admitir que, durante la descomposición del gas carbónico, hay una descomposición concomitante del agua. 2 volúmenes de vapor de agua dan 2 volúmenes de hidrógeno y 1 volumen de oxígeno. En resumen, la función de asimilación podría representarse por las dos expresiones:

$$CO^2 = CO + O,$$
$$H^2O = H^2 + O,$$

o bien, haciendo intervenir el ***hidrato carbónico*** como producto inicial:

$$CO^3H^2 = COH^2 + O^2.$$

La planta fija, pues, el cuerpo COH^2, es decir, el *aldehido metílico* o *formol* $H - COH$. Berthelot, el primero (1874), luego Boussingault (1868) y Baeyer (1870), han emitido la idea de que este aldehido era el producto inicial de la síntesis fotoquímica y que, de su polimerización, con o sin pérdida de agua, procedían todos los hidratos de carbono cuya presencia se comprueba en la hoja asoleada:

$$(CH^2O)^6 = C^6H^{12}O^6 \text{(glucosa, levulosa)},$$
$$(CH^2O)^6 - H^2O = C^6H^{10}O^5 \text{ (fórmula simple de la fécula)}.$$

Esta manera de considerar el fenómeno clorofiliano es muy seductora; permite concebir que, antes de la formación de los hidratos de carbono de peso molecular elevado, tales como la glucosa ($C^6H^{12}O^6 = 180$), la sacarosa ($C^{12}H^{22}O^{11} = = 342$) y la fécula ($(C^6H^{10}O^5)^n$ (siendo n tal vez superior a 10), se forma primero, como producto intermediario, un cuerpo tal como COH^2, de peso molecular poco elevado ($= 30$). Sin embargo, no debe olvidarse que los numerosos procedimientos sintéticos de que se vale el vegetal para

construir la trama de sus tejidos no pueden compararse con los que empleamos en los laboratorios. Podemos actualmente, partiendo del aldehido metílico, y por sucesivas polimerizaciones, efectuar la síntesis de materias azucaradas tales como la glucosa y la levulosa, según resulta de los hermosos trabajos de E. Fischer. Pero, no se deduce de esto que podamos afirmar que la célula verde produce forzosamente en primer término aldehido metílico y después sus productos de condensación. Esta manera de considerar el fenómeno es un *modo cómodo* de explicar las cosas: no hay ninguna prueba absoluta de que responda a la realidad de los hechos.

Las primeras comprobaciones relativas a la presencia en las hojas de una substancia volátil, de naturaleza aldehídica, han sido hechas del modo siguiente. Cuando se destilan con agua hojas frescas, las primeras gotas del líquido que destila presentan a menudo un carácter marcadamente reductor. Ennegrecen el nitrato de plata amoniacal o producen un precipitado de óxido cuproso cuando se calientan con el reactivo cupropotásico. Esta reducción caracteriza la presencia de cuerpos de naturaleza aldehídica. Recientemente, Curtius y Franzen (1917) han dado, por primera vez, la prueba absoluta de la presencia del aldehido metílico en las hojas transformando este aldehido en ácido fórmico; 1 kilogramo de hojas de haya no contenía del mismo más que 0,00086 gramos.

Muchos experimentadores se han esforzado, desde más de treinta años, en demostrar la realidad de la hipótesis que hace del aldehido metílico el primer grado de la síntesis de las materias hidrocarbonadas, fundándose en numerosos ensayos de nutrición concebidos en el sentido siguiente. Sabido es que una hoja, o mejor aún ciertas algas verdes, puestas en la obscuridad durante algún tiempo, pierden poco a poco la fécula que primitivamente contenían. Inmergiendo estos vegetales que han perdido su fécula en agua que contenga una pequeña cantidad de aldehido metílico, se podrá esperar ver aparecer fécula en sus tejidos por efecto de la polimerización de este aldehido, del mismo modo que se ve formar fécula en las hojas de que se ha quitado la fécula inmergidas en una solución de diversas materias azucaradas (véase más adelante). Pero, los primeros ensayos dirigidos en este sentido no han sido satisfactorios, por ser el aldehido metílico un cuerpo muy tóxico aun en pequeñas dosis. Sin embargo, algunas algas, y hasta vegetales superiores, se des-

arrollan expuestas a una iluminación insuficiente en presencia de indicios de aldehido metílico puro, según resulta de las investigaciones de Bóuilhac y Giustiniani.

El experimento da mejor resultado cuando se emplean substancias derivadas del aldehido metílico, menos tóxicas que él (metilal $CH^2[OCH^3]^2$, metanolsulfonato sódico $CH^2OH[SO^3Na]$, etc). Algas que han perdido su fécula en la obscuridad, la regeneran cuando están en contacto con soluciones diluídas de estas diversas substancias (Loew, Bokorny).

De todos modos no debe perderse de vista que, si la presencia del aldehido metílico es, en este punto, difícil de comprobar en las plantas, se debe esto a la extremada facilidad con que este aldehido experimenta múltiples transformaciones. He aquí un ejemplo. Sabido es que el agua sola, actuando a elevada temperatura sobre el aldehido, determina la formación de ácido fórmico, alcohol metílico y gas carbónico:

$$2\,CH^2O + H^2O = CH^2O^2 + CH^4O.$$
$$3\,CH^2O + H^2O = CO^2 + 2\,CH^4O.$$

Sin querer asemejar de una manera absoluta estas reacciones, efectuadas a una temperatura elevada, con las que ocurren en la célula verde, se puede, no obstante, explicar mediante las dos ecuaciones precedentes, la presencia casi universal del *alcohol metílico* en las hojas verdes, según Maquenne (1886), y la del *ácido fórmico* libre en muchos vegetales (Delépine, 1896).

Es igualmente posible que la reducción del gas carbónico en presencia del agua se efectúe en dos fases: en la primera se formaría ácido fórmico y quedaría en libertad un átomo de oxígeno; en la segunda se separaría otro átomo de oxígeno, formándose aldehido fórmico:

$$CO^2 + H^2O = CH^2O^2 + O = CH^2O + O^2.$$

En efecto, el magnesio metálico puede, en ciertas condiciones, reducir el ácido carbónico en presencia del agua, engendrando aldehido fórmico. En las mismas condiciones, el ácido fórmico es reducido rápidamente al estado de aldehido fórmico: el ácido fórmico sería, pues, un producto intermedio de la reducción del gas carbónico (Fenton).

Esta manera de considerar la reducción del gas carbónico explicaría la presencia del ácido fórmico y del alcohol metílico en un gran número de vegetales; encontramos, pues, en otra forma, la hipótesis emitida por Delépine hace poco citada.

Influencia de las radiaciones ultravioletas en la asimilación.—Las teorías relativas a la síntesis de los hidratos de carbono se han enriquecido con nuevos datos gracias a

los recientes estudios hechos sobre las radiaciones ultravioletas que da la lámpara de cuarzo de vapores de mercurio.

Según Chapman, Chadwick y Ramsbotton (1907), el gas carbónico es descompuesto por estas radiaciones; Herchefinkel (1909) ha obtenido así una mezcla de óxido de carbono y oxígeno. Berthelot y Gaudechon (1910) han demostrado que en presencia de los rayos químicos emitidos por la lámpara de mercurio, el óxido de carbono se une con el oxígeno formando gas carbónico. El vapor de agua es descompuesto en oxígeno e hidrógeno; cuando esta descomposición se efectúa en presencia del óxido de carbono, se comprueba la formación, después de muchas horas de exposición, de notables cantidades de aldehido fórmico. Recíprocamente, este último cuerpo, expuesto a las radiaciones, se descompone en óxido de carbono e hidrógeno. La reacción sería, pues, reversible. La amida fórmica ($COH. NH^3$) se formaría por unión de volúmenes iguales de óxido de carbono y amoníaco.

Si se admite con Boussingault (pág. 81) que, en el fenómeno clorofiliano, el óxido de carbono aparece como primer término de la descomposición del gas carbónico, el aldehido metílico procedería, pues, de la unión de este óxido con el hidrógeno procedente de la descomposición del agua por la acción de las radiaciones ultravioletas. La clorofila, según Stoklasa y Zdobnicky (1911), absorbería estas radiaciones y desempeñaría el papel de sensibilizador.

La idea de la presencia de un *catalizador*, en el ejercicio de la función asimiladora, ha sido emitida diferentes veces. Contentémonos, respecto de este punto, con señalar los siguientes hechos:

Si se prepara una solución coloidal muy diluída de óxido de urano (0,028 gr. por 100) dializando una mezcla de nitrato de uranilo y de nitrato amónico, se satura en seguida esta solución con gas carbónico y se somete a la acción directa de la radiación en tubos de vidrio cerrados se observa, al cabo de uno o dos días de insolación, que el líquido destilado da la reacción característica del aldehido fórmico: el mismo experimento, hecho en la obscuridad o a la luz difusa, da un resultado negativo. Si se interpone, entre la luz solar y el

tubo, una solución de clorofila o de sulfato de quinina, la cantidad de aldehido metílico aumenta. Se obtienen resultados análogos con una lámpara de vapores de mercurio empleando tubos de cuarzo. Una solución de hidrato férrico coloide (0,113 a 0,20 gr. por 100), saturada de gas carbónico, se comporta de la misma manera (Moore y Webster, 1913).

Conclusiones.—Es, pues, lógico creer que el aldehido metílico COH^2 es el primer término de la función clorofiliana; pero, es imposible afirmar de una manera positiva que esto realmente sea así. La hipótesis del aldehido es una hipótesis cómoda, que no está en contradicción flagrante con los hechos, pero nada más.

Por otra parte, el aldehido metílico es un producto muy tóxico; su existencia no debe ser más que de corta duración y su concentración muy pequeña. Admitamos, pues, con las restricciones precedentes, que todo ocurre como si el aldehido metílico se polimerizase con extremada rapidez (algunos minutos) para dar origen a la fécula, el *primer producto de asimilación visible,* según la expresión de Sachs.

Este origen *aldehídico* de la fécula, si es cierto en la mayoría de los casos, no es ciertamente general en absoluto. Veremos, en efecto, a propósito de la respiración y de los fenómenos de la acidificación de los vegetales, que las plantas carnosas pueden producir hidratos de carbono en una atmósfera exenta de gas carbónico: entonces se forman éstos a expensas de los ácidos.

Se ha querido ir más allá afirmando que el punto de partida de los hidratos de carbono era forzosamente el aldehido metílico. Efectivamente, la planta contiene no solamente hidratos de carbono con C^6, o sus polímeros, sino también hidratos con C^5 (pentosanas, pentosas) y con C^7 (heptosas): estos cuerpos son, en suma, polímeros del aldehido metílico. Pero, debe observarse que el origen de las heptosas es totalmente desconocido, y que no han sido encontradas más que en un pequeño número de vegetales. En cuanto a las pentosas (arabinosa, xilosa, $C^5H^{10}O^5$), no parecen proceder directamente de la función asimiladora; más bien debe considerárselas como productos de oxidación de las hexosas con

eliminación de una molécula de agua. Volveremos más adelante a este punto.

Añadamos que Bielecki y Wurmser (1912) han observado que una emulsión de fécula en agua, expuesta a las radiaciones ultravioletas, contiene pentosas y cuerpos de función ácida.

Origen albuminoide de la fécula.—Belzung (1887, 1891) ha desarrollado desde otro punto de vista la síntesis de la fécula. Este autor hace notar que es bastante frecuente observar que los granos de fécula, al crecer, substituyen más o menos completamente a los cuerpos clorofilianos que los han producido. La fécula no parecería, pues, proceder de la unión directa del carbono con los elementos del agua, sino que resultaría de una especie de *secreción* de los cuerpos clorofilianos. Incorporándose en primer término el gas carbónico a la materia colorante, entraría en reacción con los demás principios llevados por la savia, sobre todo los nitratos. El producto de este trabajo sintético sería, por de pronto, una materia cuaternaria, albuminoide, y la fécula no constituiría más que un producto de descomposición o de regresión de ésta. En tal hipótesis se ve que, conforme por lo demás con la observación, la génesis de la fécula debe cesar no solamente en ausencia del gas carbónico, sino también en ausencia de los elementos minerales indispensables para la producción de la clorofila, entre otros el fósforo. De todas maneras, este mecanismo productor de féculas no sería el único capaz de engendrar este hidrato de carbono.

Una objeción, de carácter químico, se opone a la adopción de esta manera de ver. Entre los productos de descomposición de las materias cuaternarias no ha sido posible, hasta ahora, aislar un hidrato de carbono propiamente dicho.

VI

HIPÓTESIS SOBRE LA DESCOMPOSICIÓN DEL AGUA EN EL FENÓMENO CLOROFILIANO

Según hemos dicho anteriormente, Boussingault suponía que, en la asimilación clorofiliana, no solamente era descompuesto el gas carbónico, sino también el agua. De Saussure había observado, mucho tiempo antes, «*que en las plantas que vegetan con ayuda del agua sola, en vaso cerrado, en el*

aire atmosférico desprovisto de gas carbónico, apenas aumenta el peso de su substancia vegetal en estado seco y que, si aumenta, es en una muy pequeña cantidad, muy limitada, o, en otros términos, que no puede ser aumentada por una vegetación continuada más largo tiempo». No puede haber asimilación del agua y aumento de materia seca más que cuando hay descomposición concomitante del gas carbónico; también de Saussure dedujo de sus numerosos experimentos que nunca descomponen las plantas el agua, asimilando el hidrógeno y eliminando el oxígeno en estado gaseoso.

Pero, según Boussingault (*Économie rurale,* tomo I, pág. 82, 1851), la prueba de la separación de los elementos del agua se derivaría del análisis de los vegetales que se hacen crecer en un medio *absolutamente desprovisto de materias orgánicas* capaces de suministrarles elementos hidrogenados. Si, en efecto, se hace vegetar una planta en un medio puramente mineral, provisto de las materias salinas necesarias y que no contenga, en cuanto a substancias volátiles, más que gas carbónico y agua, y si esta planta, después de una duración suficiente de la vegetación, manifiesta en el análisis un exceso de hidrógeno, es decir, contiene este elemento en una proporción mayor de la necesaria para transformar su oxígeno en agua, deberá deducirse que los elementos del agua han sido desunidos. He aquí, respecto de este punto, cuatro experimentos debidos a Boussingault:

	Oxígeno asimilado	Hidrógeno asimilado	Hidrógeno formando agua con el oxígeno	Exceso de hidrógeno
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
Trébol . . .	1,226	0,176	0,153	0,023
Trébol . . .	1,444	0,097	0,055	0,042
Guisantes . .	1,237	0,215	0,155	0,060
Trigo . . .	1,608	0,078	0,076	0,002

No considerando más que estas cifras en bruto, parecería, pues, que el agua ha sido descompuesta y que una parte de su hidrógeno ha sido fijada por el vegetal. Hagamos notar, además, que todos los análisis de las plantas enseñan que *siempre* hay exceso de hidrógeno con relación a los elementos del agua.

Esta descomposición del agua se efectúa por intervención de las radiaciones ultravioletas, según hemos dicho antes. Sin embargo, es inútil invocar su existencia para comprender por qué el análisis centesimal de una planta acusa constantemente un exceso de hidrógeno.

Para comprender este hecho, es necesario acudir por anticipado

al estudio de los fenómenos respiratorios y al de los procesos de desdoblamiento de las materias hidrocarbonadas que se realizan normalmente en el vegetal.

Admitamos que, por efecto del fenómeno asimilador, no se forman en el vegetal más que hidratos de carbono, es decir, cuerpos tales como $(CH^2O)n$, en los cuales el hidrógeno y el oxígeno sólo entran en las proporciones del agua: esto, según hemos admitido antes, parece conforme con los hechos, puesto que la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ del gas carbónico asimilado con el gas oxígeno es igual a la unidad. Según esta relación, el análisis centesimal de una planta debería indicar siempre que la cantidad de oxígeno que entra en su composición corresponde exactamente a la proporción de hidrógeno indicada por el análisis.

Pero, la planta, mientras dura su vegetación, *respira*, es decir, toma oxígeno de la atmósfera y desprende gas carbónico. Supongamos que el *cociente respiratorio* $\frac{CO^2}{O^2}$, o en otros términos, la relación entre el oxígeno exhalado en forma de gas carbónico y el oxígeno libre absorbido, sea siempre igual a la unidad: es evidente entonces que la relación entre el hidrógeno y el oxígeno contenidos en la planta permanecerá *constante*, porque hemos admitido, en hipótesis, que esta planta no contiene más que hidratos de carbono. Unicamente se quemará el carbono en el fenómeno respiratorio, y los elementos del agua, existente en estos hidratos de carbono, seguirán en su relación invariable. Pero, generalmente no ocurre así durante la respiración: el cociente respiratorio, si bien a veces es igual a 1, puede ser superior o inferior a la unidad.

1.° *Es superior a la unidad:* dicho de otra manera, el vegetal pierde un volumen de gas carbónico mayor que el del oxígeno que absorbe o, en otros términos, pierde más oxígeno en forma de gas carbónico que el que toma en estado libre de la atmósfera. Este caso es, por otra parte, el más general, como veremos cuando nos ocupemos en la respiración. Se pueden explicar las reacciones que ocurren entonces de dos maneras:

α) Un hidrato de carbono, prescindiendo de toda absorción de oxígeno, se convierte por desdoblamiento en un cuerpo más rico que él en hidrógeno. Esto es lo que representa la siguiente expresión *esquemática:*

$$C^6H^{12}O^6 = CO^2 + C^5H^{12}O^4.$$

En realidad, un desdoblamiento de esta naturaleza se observa en el caso de la *fermentación alcohólica* que provocan la mayoría de las células vegetales en contacto con las materias azucaradas (véase más adelante). Este *desdoblamiento* se expresa por la ecuación:

(1) $$C^6H^{12}O^6 = 2\,CO^2 + \underset{\text{Alcohol}}{2\,C^2H^6O}.$$

El alcohol, que, *en las condiciones normales,* no aparece más que en muy pequeñas cantidades, sufre efectivamente fenómenos de eterificación y origina *éteres* cuya presencia, bastante frecuente en muchas plantas, indica que ha habido formación, en un momento determinado, de alcohol en sus tejidos.

β) La combustión *incompleta* de un hidrato de carbono puede también engendrar un cuerpo carbonado volátil, exento de hidrógeno, y dejar una substancia más rica en hidrógeno que el hidrato de carbono primitivo. Semejante reacción debe producirse en la génesis de los *cuerpos grasos,* tan comunes en muchos vegetales. La *glicerina,* núcleo de todos los cuerpos grasos, podrá originarse según la siguiente ecuación:

$$(2)\quad C^6H^{12}O^6 + O^5 = \underset{\text{Glicerina}}{C^3H^8O^3} + 3\,CO^2 + 2\,H^2O \quad \frac{CO^2}{O^2} = \frac{6\text{ vol.}}{5\text{ vol.}}.$$

Por otra parte, *los ácidos grasos de peso molecular elevado* que se encuentran en combinación con la glicerina en forma de *trioleína,* podrán formarse según una expresión análoga a la precedente:

$$(3)\quad 6\,C^6H^{12}O^6 + O^{21} = \underset{\text{Ac. oleico}}{C^{18}H^{34}O^2} + 18\,CO^2 + 19\,H^2O \quad \frac{CO^2}{O^2} = \frac{36\text{ vol.}}{21\text{ vol.}}.$$

Vemos, pues, que, según la primera ecuación, aparece cierto volumen de gas carbónico que no procede de una combustión directa, ya que no hay absorción de oxígeno. Este ácido carbónico, añadiéndose al que suministra la respiración normal, aumentará el valor del cociente respiratorio, el cual sobrepujará a la unidad.

A tenor de la segunda, así como según la tercera ecuación, resultan cocientes $\frac{CO^2}{O^2}$ mayores que la unidad: la planta se ha *desoxidado* por efecto de la eliminación de un gas volátil, rico en oxígeno, el gas carbónico. Contiene entonces un cuerpo más rico en hidrógeno (glicerina, ácido oleico) que el cuerpo inicial, es decir, el hidrato de carbono: contiene, pues, una substancia en la que existe un *exceso de hidrógeno con relación a los elementos del agua.*

Así, pues, cada vez que se forme en la planta un éter o un cuerpo graso, veremos aparecer un cuerpo que contiene un exceso de hidrógeno en relación a los elementos del agua.

Si, ahora, consideramos por adelantado la formación de las substancias cuaternarias, tales como las amidas y los albuminoides, en cuya composición molecular entra siempre un exceso de hidrógeno respecto de la cantidad capaz de convertir todo el oxígeno en agua, veremos luego que es aún fácil de explicar su génesis sin necesidad de invocar la descomposición directa del agua.

Tomemos, como ejemplo, el caso de la *asparagina,* amida, cuya

presencia corriente se observa, ya en la descomposición, ya en la reconstrucción de los albuminoides, como se dirá a propósito de la germinación. Para explicar el mecanismo muy probable de la formación de esta amida, partiendo de los hidratos de carbono y del ácido nítrico de los nitratos que la planta toma del suelo, podemos servirnos de la expresión que sigue:

$$2\,C^6H^{12}O^6 + 6\,NO^3H = 3\,\underset{\text{Asparagina}}{C^4H^8N^2O^3} + 3\,H^2O + 9\,O^2,$$

reacción tanto más conforme con la realidad en cuanto pone en libertad a cierta cantidad de oxígeno. Ya hemos visto (pág. 75) que Schlœsing hijo había observado, en los cambios gaseosos de las plantas enteras, un fenómeno de reducción de las sales minerales oxigenadas que se manifestaba por el desprendimiento de un volumen de oxígeno superior al del gas carbónico absorbido; el exceso de oxígeno es muy escaso cuando se pone a disposición de la planta una sal amoniacal en vez de un nitrato.

Todos los hechos precedentes concurren, pues, a demostrar que es inútil invocar la descomposición del agua para explicar el exceso de hidrógeno observado en el análisis del vegetal.

2.° *El cociente respiratorio* $\frac{CO^2}{O^2}$ *es inferior a la unidad.* La planta desprende, entonces, en forma de gas carbónico, un volumen de oxígeno menor que el que absorbe en estado de libertad; *se oxida* de una manera continua y a veces hasta se oxida sin desprender indicios de ácido carbónico. Según veremos al tratar de la respiración, esta fijación del oxígeno se efectúa en los hidratos de carbono, y conduce a la formación de substancias más ricas en oxígeno que el hidrato de carbono inicial, pero menos ricas en oxígeno que el gas carbónico. Estas substancias son ciertos ácidos orgánicos (oxálico, tartárico, málico, cítrico). Es fácil darse cuenta de la formación del ácido oxálico, por ejemplo, por medio de la siguiente expresión:

$$C^6H^{12}O^6 + O^9 = 3\,C^2H^2O^4 + 3\,H^2O.$$

Pero, la existencia de estos ácidos muy a menudo es temporal: desaparecen a su vez a causa de fenómenos de oxidación total cuyo mecanismo examinaremos ulteriormente, y esta desaparición puede formularse así:

$$C^2H^2O^4 + O = 2\,CO^2 + H^2O.$$

Aquí también se observa que el cociente de destrucción de los ácidos $\frac{CO^2}{O^2} = \frac{4}{1}$ es muy superior a la unidad. Entramos, pues, en el caso antes estudiado.

En resumen, la explicación del exceso de hidrógeno contenido en la planta debe buscarse solamente en la *variación del cociente respiratorio*, el cual, la mayor parte de las veces, es superior a la unidad.

Síntesis de la fécula por medio de materias azucaradas.—Si bien ignoramos la naturaleza del primer producto que se forma en la descomposición del gas carbónico por la acción de la célula verde, podemos suponer, no obstante, que este primer término de la síntesis es un hidrato de carbono de peso molecular poco elevado. El aldehido metílico hipotético suministraría por de pronto glucosa, luego sacarosa, maltosa, por último, dextrinas y fécula. La presencia constante de la glucosa en muchas liliáceas, en cuyos tejidos no existe fécula, enseña que este azúcar es uno de los primeros productos de la síntesis clorofiliana.

Se ha podido demostrar experimentalmente que la hoja era capaz de condensar de alguna manera muchas moléculas de glucosa, o de cuerpos análogos, y de almacenar fécula. Los siguientes ensayos, debidos a Bœhm (1883) y a A. Mayer (1886), son significativos respecto de este punto.

Es preciso, por de pronto, proporcionarse hojas exentas de fécula. Pues bien, ésta desaparece cuando se mantienen la planta o la hoja algún tiempo en la obscuridad. Es necesario asegurarse por la observación microscópica de la ausencia absoluta de la fécula, a fin de que el experimento tenga algún valor. Supongamos que disponemos de hojas desposeídas de fécula; se cortan éstas en fragmentos de 4 a 6 $cm.^2$ de superficie y luego se introducen, con la cara superior hacia abajo, en soluciones acuosas de diferentes materias azucaradas: glucosa, levulosa, galactosa, sacarosa. El experimento debe hacerse en la obscuridad.

Investigando, al cabo de algunos días, la presencia de la fécula, se observa que ciertas hojas han sido capaces de transformar los azúcares mencionados en fécula. La galactosa parece ser el cuerpo menos apropiado para este objeto. Las hojas de remolacha, de saponaria y de colleja, se prestan a la regeneración de la fécula cuando están en contacto con las materias azucaradas que hemos citado antes.

La hoja parece, sobre todo, formar fécula con el azúcar especial que sus tejidos normalmente contienen. Así es que la mayoría de las compuestas contienen en sus raíces y en sus tallos *inulina*, hidrato de carbono que tiene mucha analogía con la fécula, pero que forma

levulosa por inversión. Las hojas de las compuestas almacenan fécula cuando se hacen flotar sobre soluciones de levulosa: dan resultado negativo con soluciones de glucosa o de galactosa (hojas de *Sylphium*, de *Helianthus*).

En contacto con soluciones de sacarosa, todas las hojas suministran fécula. ¿El azúcar de caña es absorbido tal como es o se desdobla primero en una mezcla equimolecular de glucosa y levulosa? Parece que las hojas absorben el azúcar íntegro, porque, si se determinan cada día los azúcares reductores formados en la solución y se les compara con la cantidad de fécula que ha aparecido, se encuentra que la proporción de glucosa producida por inversión es demasiado escasa para provocar la formación de una cantidad de fécula tan considerable.

Por lo que se refiere a las demás materias azucaradas ensayadas, señalaremos los hechos siguientes: La lactosa o azúcar de leche, desdoblable en glucosa y galactosa, no produce fécula; la maltosa, que se desdobla en 2 moléculas de glucosa, da pequeñas cantidades de fécula con las hojas de remolacha y más con las de dalia.

Algunos alcoholes poliatómicos, como la manita y su isómero la dulcita, cuya fórmula $C^6H^{14}O^6$ no difiere de la de la glucosa más que por contener 2 átomos más de hidrógeno, son también capaces de producir fécula. Si se emplean soluciones de manita del 10 al 20 por 100, se observa que las hojas de la mayor parte de las plantas de la familia de las *oleáceas* regeneran la fécula en contacto con esta substancia. Pues bien, se encuentra manita normalmente en el zumo de muchas oleáceas. La dulcita, que se halla en muchos vegetales de la familia de las *escrofulariáceas* y en las hojas del *bonetero,* no provoca la formación de la fécula más que en las hojas de esta última planta.

Citemos, además, el hecho de que la eritrita, $C^4H^{10}O^4$, alcohol tetratómico, da resultados negativos, mientras que la glicerina $C^3H^8O^3$, alcohol triatómico, da resultados positivos con las hojas de dalia y con las de remolacha.

En principio, la solución azucarada en la que se hacen flotar los fragmentos de hojas debe tener una concentración mínima, variable con la especie vegetal sometida al experimento, y por debajo de la cual la hoja no forma fécula. La condensación de los hidratos solubles en hidratos insolubles (fécula), con aumento del peso molecular, depende, pues, de la concentración de los hidratos de carbono disueltos en el jugo celular (Sapoznikow, 1893).

Se puede, pues, deducir, con alguna verosimilitud, que la fécula no se forma inmediatamente en la función clorofiliana, sino que su aparición va precedida de la de materias azucaradas más simples, representando esta fécula su último grado de condensación.

En cuanto a la desaparición de la fécula bajo la influencia de la obscuridad, hablaremos de ella a propósito de los fenómenos de migración.

Límite de la acumulación de los hidratos de carbono. —La energía con que la hoja asimila es tanto menor cuanto mayor es la cantidad de carbono que ya contiene ésta. Más allá de cierta proporción de hidratos de carbono contenidos en la hoja, la asimilación cesa.

Además, interviene aquí otra cuestión. La mayoría de los fisiólogos creen que la totalidad del gas carbónico que un órgano verde descompone se emplea únicamente en la producción de los hidratos de carbono. Sin embargo, según sus experimentos y los cálculos que ha efectuado sobre la cantidad de gas descompuesto, Sapoznikow admite que la descomposición del gas carbónico suministraría a la vez cierta proporción de albuminoides, sin que se pueda saber si el hidrato de carbono y la albúmina se originan al mismo tiempo o independientemente uno de otra, o bien si una de estas dos substancias precede a la otra en su aparición, transformándose después parcialmente en ella.

Cantidad máxima de fécula que puede acumular una hoja.—Sapoznikow ha determinado la cantidad máxima de fécula que pueden acumular ciertas hojas, cantidad más allá de la cual la asimilación debe necesariamente cesar, hasta que la emigración de esta materia permita un nuevo almacenamiento: *Vitis vinifera* (hojas cortadas), 16 a 16,686 gr. (por metro cuadrado de superficie); *Vitis labrusca,* máximo que varía de 11 a 19 gr.; *Rubus cæsius,* 14,6 a 15,7 gr.; *Rubus fructicosus,* 13 a 14 gramos.

VII

INFLUENCIA DE LOS AGENTES EXTERIORES EN EL FENÓMENO ASIMILADOR

A. **Acción de la luz.**—La acción de la luz solar, o la de ciertas luces artificiales, es indispensable para la manifestación del fenómeno clorofiliano. Todo órgano verde, es decir, provisto de clorofila, exige, para descomponer el gas carbónico, un mínimo de iluminación. Además, las radiaciones de desigual refrangibilidad que componen la luz blanca no son igualmente eficaces para determinar el fenómeno asimilador.

En la mayoría de los vegetales, no aparece la clorofila hasta que la luz ha iluminado al vegetal con mayor o menor intensidad. La planta sigue de color amarillo mientras permanece en la obscuridad. Se ha pretendido que *el primer producto de la asimilación era la misma clorofila,* dado que ésta no aparece con su color verde característico, hasta el momento en que el vegetal recibe por primera vez la impresión luminosa. El hecho no es exacto. En efecto, la clorofila existe preformada en algunas plantas, donde se encuentra independientemente de toda acción de la luz; los embriones de las coníferas, por ejemplo, casi siempre están provistos de clorofila, aun en la obscuridad. Existen algunas algas que, alimentadas artificialmente, son verdes en la obscuridad absoluta. Pero, en ninguno de estos últimos casos, es capaz la clorofila de descomponer el gas carbónico hasta que la luz solar actúa sobre ella.

Estudiemos ahora la acción de la luz sobre la planta verde.

Entre los numerosos trabajos publicados sobre este asunto, mencionaremos dos principalmente.

Método del espectro. — Timiriazeff (1877) aísla los haces luminosos por medio del prisma, y estudia cada uno de ellos desde el punto de vista de su acción sobre una planta verde o un fragmento de ella. Para obtener resultados precisos es necesario emplear un espectro bien puro: lo que ocurre cuando la rendija iluminada no pasa de cierta anchura. Pero, como un espectro pierde en intensidad lo que gana en limpieza, es preciso operar con un espectro de pequeñas dimensiones para disponer de una luz suficientemente intensa. Resulta de ello que las partes verdes, puestas en las diferentes regiones del espectro, no deberán presentar más que una escasa superficie. Por consiguiente, las cantidades de gas carbónico descompuesto serán mínimas, y su determinación cuantitativa por los métodos ordinarios será imposible. Así es que Timiriazeff acude a un nuevo método gasométrico (método de Doyère modificado), que le permite emplear campanas de 2 a 3 milímetros de diámetro y medir con precisión

centésimas y aun milésimas de centímetro cúbico de gas. No nos entretendremos describiendo el aparato, ni la manera de operar, fijándonos únicamente en el resultado fisiológico obtenido.

Se introducen hojas de bambú, cortadas en fragmentos cuya superficie se conoce, en pequeñas campanas que contienen un volumen de gas rigurosamente conocido (aire enriquecido con un poco de gas carbónico). Luego se exponen estas pequeñas campanas en las diferentes partes del espectro. Su exposición a la luz debe durar unas seis horas; se separan después rápidamente las campanas y se analiza su contenido.

Digamos por adelantado que, cuando la luz solar atraviesa una hoja verde o una solución alcohólica de clorofila antes de llegar a un prisma, se observa, en la pantalla donde se proyecta el espectro, la desaparición de una parte de los colores de éste. En su lugar aparecen *bandas negras*, cuya posición es característica para la clorofila. Una solución medianamente concentrada de este pigmento da *cuatro bandas de absorción* negras, una de las cuales, muy ancha, situada algo acá de la raya *F* del espectro solar, continúa hasta el ultravioleta. Pero, la banda que se puede calificar de *característica* está situada *entre las rayas B y C del espectro solar*, es decir, en la región anaranjada y el principio de la amarilla. En efecto, esta banda se observa hasta con soluciones extremadamente diluídas. Si se compara la curva de descomposición del gas carbónico obtenida por el análisis del contenido de las diversas campanas del experimento anterior con el espectro de absorción de la clorofila, se llega a la conclusión de que los rayos eficaces para determinar en la parte izquierda del espectro la descomposición del gas carbónico *son realmente los rayos absorbidos por la clorofila.*

La reducción del gas carbónico depende, pues, de la presencia de ciertos rayos específicos, precisamente de aquellos que son absorbidos por la clorofila; el máximo de fijación del carbono está situado entre las rayas *B* y *C* del espectro solar, y el *poder químico de la clorofila* está en relación directa con sus propiedades ópticas. La luz roja no actúa en la des-

composición del gas carbónico; pero, esta descomposición, si bien es máxima entre las rayas *B* y *C*, existe todavía, aun cuando en débil grado, en todas las regiones del espectro situadas más allá de la raya *C* y aun en el ultravioleta. Langley ha fijado la posición del *máximo de energía*, en el espectro normal, en la región anaranjada y precisamente en la parte del espectro que corresponde a la banda característica de la clorofila. Se puede, pues, admitir como demos-

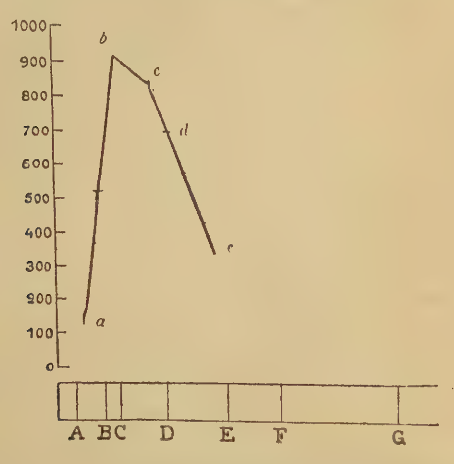


Fig. 3.—Curva de la descomposición del ácido carbónico en el espectro.—A, B, C, D, etc., rayas del espectro solar.

trada la existencia de una relación entre la energía de la radiación y la intensidad del fenómeno químico. Se llega, así, al curioso resultado de que la clorofila puede ser considerada como un absorbente especialmente adaptado a la absorción de los rayos solares que poseen el máximo de energía. Examinando la relación cuantitativa que existe entre la cantidad de energía solar absorbida por la clorofila de una hoja y la que es almacenada por efecto del trabajo químico producido, estando la planta en las condiciones más favorables para la producción del fenómeno, se encuentra que 40 por 100 de la energía solar correspondiente al haz de luz

absorbido por la banda característica de la clorofila resulta haberse transformado en trabajo químico (Timiriazeff). El trabajo clorofiliano se extiende, pues, muy allá en la parte más refrangible del espectro: en esta parte, sin duda, no es ya productor; pero, su existencia no por esto deja de poder ser observada, como han hecho notar Bonnier y Mangin.

Método del microespectro. — Para determinar con qué intensidad se produce la asimilación en las diferentes regiones del espectro, se puede utilizar un método muy elegante, descrito por Engelmann (1882). Se proyecta un espectro microscópico sobre el portaobjetos del microscopio. Para ello, un haz de luz blanca reflejada por un espejo pasa a través de una pequeña rendija y después por un prisma. En el sentido de la imagen espectral se extiende un filamento de alga, inmergido en una gota de agua cargada de gas carbónico. En estas condiciones, es evidente que es imposible efectuar mediciones gasométricas. El citado autor, para reconocer la presencia del oxígeno, emplea un reactivo de una extremada sensibilidad: la bacteria ordinaria de la putrefacción, el *Bacterium termo*. Las bacterias de esta especie son aerobias; requieren para vivir la presencia del oxígeno. Se introduce, pues, debajo de la laminilla que cubre el alga filamentosa una gota de un líquido donde pululan estas bacterias. En las regiones del espectro donde ocurra el desprendimiento del oxígeno, procedente de la descomposición del gas carbónico de la gota de líquido que baña la preparación, las bacterias se pondrán en movimiento, y este movimiento será tanto más intenso cuanto mayor sea el desprendimiento gaseoso. Se observa que el movimiento de las bacterias principia en el rojo; entre las rayas *B* y *C* es muy acentuado; se amortigua más allá, y entre las rayas *D* y *E*, es decir, en la parte verde del espectro, es débil. Pero, recobra nueva actividad en la región azul, en las cercanías de la raya *F*, y presenta así un nuevo máximo; después el movimiento disminuye y cesa en la región violeta.

Cuando la intensidad de la iluminación es suficiente, el movimiento de las bacterias se extiende poco a poco en los dos lados de la preparación y, si el líquido que moja a ésta está cargado de una cantidad suficiente de microorganismos, se obtiene una especie de *representación gráfica* del fenómeno asimilador.

Así, el principio del ultrarrojo no ejerce acción sobre la asimilación; el desprendimiento del oxígeno cesa en el límite de los rayos rojos visibles, y existen dos máximos de desprendimiento gaseoso, el uno entre *B* y *C* y el otro en las cercanías de *F*.

Resulta de lo que se acaba de decir que el método del microespectro da un resultado bastante diferente del método del espectro ordinario, en el cual se observa un solo máximo entre las rayas *B* y *C*. Esta anomalía podría explicarse por el hecho de que la planta

verde contiene siempre, al lado de la clorofila, cierta cantidad de una materia colorante roja, la *carotina,* que absorbe los rayos azules. La carotina tal vez desempeña un papel en la asimilación, lo que explicaría el segundo máximo de desprendimiento de oxígeno observado en *F* (figs. 4 y 5).

Engelmann hace notar también que, en la mayor parte de los experimentos hechos en el espectro, se emplean objetos *macroscó-*

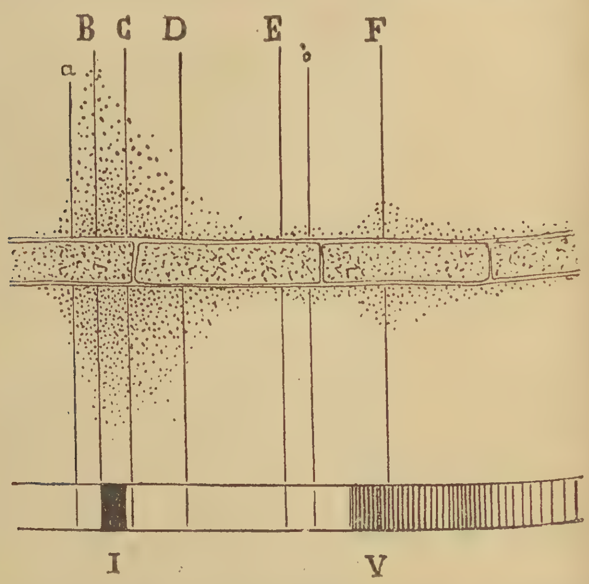


Fig. 4.—La parte media del grabado representa un filamento de conferva, en una gota de agua donde pululan bacterias aerobias, en el microespectro de la luz solar, según Engelmann. Las bacterias se agrupan alrededor de las dos principales bandas de absorción de la clorofila. La parte baja del grabado representa las dos bandas de absorción I y V.

picos (generalmente hojas enteras), en los cuales la luz actúa en muchas capas clorofilianas superpuestas; sólo la capa superior recibe la luz blanca; las demás deben contentarse con la luz desposeída de ciertos rayos por los tejidos verdes que ha atravesado.

De todos modos, es de presumir que el segundo máximo observado no es debido a la función clorofiliana. Se sabe que la luz azul acelera el movimiento de las zoosporas, y es probable que esta luz ejerza el mismo efecto en las bacterias.

Lo que tiende a hacer creer que la función asimiladora posee su mayor energía únicamente entre las rayas *B* y *C*, según demuestran los experimentos de Timiriazeff, es que se obtiene el mismo resultado con el empleo de un método llamado de los *tallos seccionados*.

Este método, empleado por Reinke, consiste en estudiar la influencia de las diferentes partes del espectro en el desprendimiento del oxígeno haciendo corresponder cada color con el tallo seccionado de una planta acuática y contando el número de burbujas gaseosas desprendidas en el seno del agua. Se obtienen así resul-

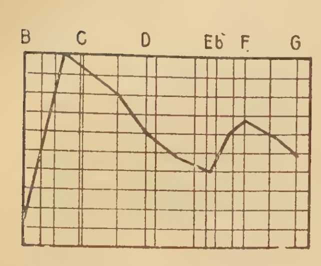


Fig. 5.—Curva de asimilación, según Engelmann.

Fig. 6.—Curva de asimilación, según Reinke.

tados que concuerdan absolutamente con los de Timiriazeff (fig. 6). Pero, no se encuentra el segundo máximo del experimento de Engelmann.

El recuento de las burbujas gaseosas da los siguientes resultados, si se designa por 100 el desprendimiento máximo que correspondiese al amarillo, según Pfeffer:

Rojo . . .	25,4	Verde . .	37,8	Añil . . .	13,5
Anaranjado.	63,0	Azul . . .	22,1	Violeta . .	7,1
Amarillo. .	100,0				

Por último, otro método puede emplearse para determinar cuál es la porción del espectro que actúa más enérgicamente sobre la asimilación, es el método de las *pantallas coloreadas*. En una campana de vidrio de dobles paredes se vierte una solución roja de bicromato: en otra, una solución azul de sulfato de cobre. La primera solución deja pasar toda la parte izquierda del espectro hasta cerca de la raya *E* situada en el verde; la segunda por el contrario, deja pasar toda la parte derecha, la más refrangible del espectro,

hasta el azul inclusive. Estas dos soluciones, convenientemente diluídas, dividen, pues, el espectro en dos partes. Poniendo una planta verde acuática en un vaso lleno de agua debajo de la primera campana, se observa un desprendimiento de burbujas gaseosas cinco veces mayor que cuando el vaso que contiene la planta está debajo de la segunda campana.

Influencia de la intensidad luminosa en la asimilación.—La descomposición del gas carbónico aumenta con la intensidad de la luz; existe, sin embargo, un grado de iluminación más allá del cual la descomposición de este gas ya no aumenta; la energía asimiladora hasta puede disminuir. Este óptimo de iluminación varía según los vegetales: está íntimamente relacionado con los cambios de lugar y con la forma de los granos de clorofila. Estos son alterados cuando la luz es demasiado intensa.

Mientras la luz solar tenga débil intensidad, hay proporcionalidad entre la cantidad de luz recibida y la cantidad de gas carbónico descompuesto. El máximo de descomposición se alcanza siempre mucho antes de que la hoja esté directamente iluminada por los rayos solares (Timiriazeff).

Las radiaciones luminosas y las *radiaciones caloríficas obscuras* ejercen en los vegetales una acción muy diferente. Resulta esto de los siguientes experimentos de Dehérain y Maquenne. Si se introducen hojas verdes en tubos y se inmergen éstos en un vaso lleno de agua situado a corta distancia de un foco luminoso, estas hojas descomponen el gas carbónico de la atmósfera que las rodea cuando el foco luminoso está constituído por la *luz Drummond* (gas oxhídrico proyectado sobre un trozo de cal viva). Esta descomposición también se efectúa, pero mucho más débilmente, cuando la fuente luminosa es una *lámpara Bourbouze* (hilo de platino calentado a la incandescencia). Pero, si en vez de rodear las hojas de una capa de agua, se las rodea de una capa de bencina, líquido mucho más diatérmano, la descomposición del gas carbónico, sensible aun con la luz Drummond, no se efectúa ya con la lámpara Bourbouze: hasta se observa el fenómeno inverso, es decir, la producción de gas carbónico por la respiración. Substituyendo la bencina por cloroformo, más diatérmano todavía, la luz Drummond no produce más que una débil descomposición del gas carbónico; con la lámpara Bourbouze la respiración predomina mucho sobre la asimilación. Resulta de esto que, cuando las radiaciones obscuras que dejan pasar los cuerpos diatérmanos dominan, las hojas descomponen muy lentamente el gas carbónico y hasta dejan de descomponerlo, como ocurre con la lámpara Bourbouze.

Combes (1910) ha demostrado que, no solamente el óptimo luminoso es diferente en una misma planta según el fenómeno fisiológico que se considere, sino que, además, la iluminación óptima para un fenómeno determinado, en una planta dada, no está representada por la misma intensidad luminosa durante toda la duración de la vida de la planta: este óptimo difiere según el período del desarrollo. En general, esta luz es débil durante las primeras fases; corresponde a iluminaciones cada vez más intensas a medida que la planta envejece.

Influencia de los rayos ultravioletas en la vegetación.—Dehérain (1881) ha comprobado que las plantas expuestas a la luz directa del arco voltaico se marchitan y ennegrecen pronto. Si se interpone un globo de vidrio transparente, este efecto dañoso, atribuíble a los rayos ultravioletas, se atenúa. En efecto, Bonnier (1892) ha demostrado que, privada así de su parte más refrangible, la luz eléctrica es más ventajosa que desfavorable.

Maquenne y Demoussy (1909) someten una rama verde a las radiaciones procedentes de una lámpara de mercurio. Observan que, si se conserva algún tiempo una rama que ha empezado a pardear, el ennegrecimiento se acentúa cada vez más por efecto de una degeneración del protoplasma, y esto aun cuando la causa perturbadora ha dejado de actuar. Las células pierden sus propiedades de hemipermeabilidad; el jugo celular deja difundir su materia colorante. El ennegrecimiento que provocan los rayos ultravioletas, así como la acción del calor y la de los cuerpos tóxicos (anestésicos), es debido a que estos agentes matan el protoplasma sin destruir las diastasas. En estas condiciones, las enzimas—y las oxidasas en particular—pueden mezclarse con ciertas substancias químicas primitivamente contenidas en células separadas, y provocar así su ennegrecimiento (por ejemplo, la tirosinasa actuando sobre la tirosina).

Influencia de las radiaciones coloreadas sobre la asimilación.—Pablo Bert, sorprendido del hecho de que las plantas verdes son raras y a veces faltan debajo de la cubierta que forman las hojas de los árboles en los bosques espesos, supone que la suspensión de la vegetación es debida a que las hojas verdes de los grandes árboles, que nos parecen tener este color porque reflejan la luz verde, no proporcionan a las pequeñas plantas más que la luz verde. Y esta luz debe serles inútil, puesto que también la rebajan; se comportan, pues, como si estuviesen en la obscuridad. He aquí, respecto de este punto, un experimento hecho con la *sensitiva*, destinado a demostrar la influencia de los diversos colores del espectro en la marcha de la vegetación de esta planta. El 12 de octubre de 1869, P. Bert puso en linternas de vidrio de color cinco sensitivas procedentes del mismo semillero y aproximadamente del mismo tamaño. Se hizo el experimento en un invernáculo caliente. Al cabo de algunas horas, las plantas no presentan todas el mismo aspecto; las

verdes, amarillas y rojas (es decir, las que están en linternas con luces de estos colores) tienen sus pecíolos extendidos y sus foliolas enderezadas; las azules y las violetas tienen sus pecíolos casi horizontales y sus foliolas extendidas. El 19, las sensitivas situadas en la obscuridad son poco sensibles; el 24 han muerto. El 24, las verdes son insensibles; el 28 han muerto. En este momento las plantas de las otras linternas están bien vivas y son sensibles, pero hay entre ellas grandes diferencias de desarrollo. Las blancas han crecido mucho, las rojas menos y las amarillas menos todavía; las violetas y las azules no parecen haber crecido. El 28, se transportan a la linterna verde las sensitivas vigorosas de la linterna blanca; el 5 de noviembre, su sensibilidad ha disminuído mucho; el 9, esta sensibilidad ha desaparecido; el 14, las plantas han muerto. Las demás sensitivas, violeta, azul, amarilla, roja, son todavía muy sensibles. A primeros de enero todas estas plantas están aún vivas; las amarillas y las rojas tienen más del doble tamaño que las violetas y las azules, que apenas han crecido. El 14 de enero, las violetas mueren. Las sensitivas puestas en la linterna verde son las que primero han perdido su sensibilidad y han muerto; la luz verde actúa, pues, casi como la obscuridad. La sensitiva, como observa P. Bert, no hace más que manifestar, con una rapidez y una intensidad especiales, una propiedad que pertenece a todas las plantas coloreadas de verde.

El estudio espectroscópico de la clorofila, que haremos más adelante, enseña que, en la parte rojoanaranjada del espectro, se encuentra la banda de absorción que hemos llamado *característica,* y hemos visto que la planta verde utiliza precisamente la radiación roja para el ejercicio del fenómeno asimilador. En las copas de los árboles, las hojas superiores absorben esta banda roja, y las radiaciones útiles no pueden llegar a los vegetales que hay debajo de ellas. Estos vegetales mueren detrás de los vidrios verdes o detrás de las plantas verdes, a causa de la absorción por estas pantallas, naturales o artificiales, de los rayos rojos indispensables para la asimilación.

Así se encuentra demostrado el papel indispensable que desempeña la luz roja o, más exactamente, la luz situada entre las rayas B y C del espectro solar. La consecuencia que puede deducirse de esto es la siguiente: una planta iluminada únicamente por esta porción del espectro debe poder desarrollarse normalmente. La solución de yodo en el sulfuro de carbono responde a este *desiderátum.* Detiene todos los rayos *luminosos,* excepto el rojo y excepto la parte precisamente del rojo que corresponde a la primera banda de absorción de la clorofila. Un vegetal (mastuerzo) se desarrolla detrás de esta pantalla coloreada casi tan bien como a la luz blanca (Regnard).

Sin embargo, es indispensable observar que la *totalidad* de los colores del espectro es necesaria para un buen funcionamiento del organismo vegetal. Los rayos más refrangibles intervienen efectivamente en la síntesis de los albuminoides; a veces la supresión de esta

parte del espectro dificulta la florescencia. Por otra parte, en muchos experimentos hechos con vidrios de color, los autores no se han asegurado bastante de que las pantallas por ellos empleadas fuesen suficientemente monocromáticas. Además, cuando se trata de una hoja verde, o de un órgano verde algo grueso, únicamente las capas superficiales del órgano considerado reciben la luz blanca; las partes más profundas no reciben más que una iluminación más o menos modificada.

Relación entre la asimilación y el color de los vegetales.—Las hojas de algunos vegetales, aunque provistas de clorofila, presentan, ya durante toda su existencia, ya durante su edad joven, un color rojo más o menos obscuro (*haya roja*, *Coleus*, etc.). Esta coloración es debida a una materia roja simplemente disuelta. Según Engelmann, los rayos verdes son los más debilitados cuando atraviesan este líquido rojo; la luz coloreada más activa, desde el punto de vista de la descomposición del gas carbónico, sería *complementaria* del color de las hojas. La luz roja es la más activa en el caso de las hojas verdes; la luz verde, inversamente, es la más activa en el caso de las hojas rojas.

Asimilación a través de una capa gruesa de agua. — Si se estudia la naturaleza de las radiaciones que atraviesan una capa de agua cada vez más gruesa (por ejemplo, agua de mar), se observa una extinción progresiva de los rayos menos refrangibles. El verde persiste más tiempo que el rojo. Así, las algas rojas son más abundantes cuando aumenta la profundidad. Pero, y esto es más difícil de explicar, existen también algas verdes en grandes profundidades.

Influencia de las radiaciones del radio en la asimilación.—Las células clorofilianas no pueden asimilar por la sola influencia del radio, o, a lo menos, la intensidad de la asimilación no es bastante para no ser enmascarada por el fenómeno de la respiración.

Por el contrario, las emanaciones radioactivas (procedentes de aguas radioactivas artificiales empleadas en el riego de cultivos), ejercen a pequeñas dosis una influencia favorable en el desarrollo de las plantas; aumentan el peso de las cosechas (Stoklasa y Zdobnicky, 1913).

B. **Influencia de la temperatura en el fenómeno clorofiliano.**—La descomposición del gas carbónico principia, según sean los vegetales, a temperaturas muy variables. En las plantas capaces de resistir húmedas los fríos intensos, la descomposición del gas carbónico puede persistir a bajas temperaturas, cuando la respiración está interrum-

pida hace tiempo. Algunas coníferas, tales como la *epícea* y el *enebro*, y un liquen, el *Evernia Prunastri*, pueden, a la luz, asimilar el carbono del gas carbónico en una atmósfera en que la temperatura ha descendido a —35° y aun a —40° (Jumelle).

Existen numerosas algas que asimilan durante toda su vida a una temperatura inferior a 0°. Muchas plantas tropicales, en cambio, no asimilan ya por debajo de 5°. En nuestros climas, la mayoría de los vegetales manifiestan un desprendimiento de oxígeno cerca de 0°.

Parece que, en general, el mínimo de temperatura está situado más bajo para la asimilación que para la respiración en la misma planta.

Cuando se estudian las variaciones de la asimilación con la temperatura, se encuentra que la elevación de ésta favorece el fenómeno clorofiliano. A partir de cierta temperatura, variable, por lo demás, con la planta considerada, la asimilación permanece estacionaria durante cierto intervalo. Si la temperatura sigue subiendo, la asimilación disminuye y cesa con la muerte del vegetal. La curva de la asimilación es, pues, muy diferente de la de la respiración, según veremos a propósito de esta última función. En efecto, la curva respiratoria no presenta máximo: a la temperatura más elevada, compatible con la vida, corresponde el desprendimiento más activo del gas carbónico.

He aquí, para fijar las ideas, cómo se comporta la asimilación en las hojas de *Rubus*, examinadas por Kreusler. Si se fija el valor de la asimilación = 1 a la menor temperatura observada, se obtienen las siguientes cifras:

Temperatura	Intensidad de la asimilación	Temperatura	Intensidad de la asimilación
2°,3	1,0	29°,3	2,4
7°,5	1,6	33°,0	2,4
11°,3	2,4	37°,3	2,3
15°,8	2,8	41°,7	2,0
20°,6	2,6	46°,6	1,3
25°,0	2,9		

La atmósfera en que se encontraban las hojas contenía 0,3 por 100 de gas carbónico; las hojas estaban iluminadas

por una luz eléctrica equivalente aproximadamente a la luz difusa de un día claro (fig. 7).

Los órganos de edades diferentes no son influídos de la misma manera por una diferencia determinada de temperatura, lo que es debido probablemente a la desigual proporción de agua de estos órganos.

Las variaciones de la asimilación clorófiliana *con la luz y la temperatura* se manifiestan por los hechos siguientes, observados por Lubimenko. Este autor ha examinado la mar-

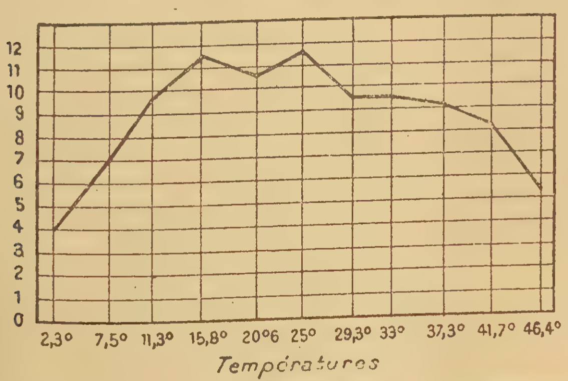


Fig. 7.—Curva de la asimilación en función de la temperatura, según Kreusler.

cha de la asimilación en plantas umbrófilas y umbrófobas expuestas a la misma iluminación, pero a temperaturas diferentes. Las hojas estaban expuestas siempre directamente a los rayos solares, cayendo éstos primero paralelamente a la superficie de la hoja, luego con un ángulo de 45° y después con un ángulo de 90°, durante quince minutos en cada experimento. Las temperaturas de observación fueron sucesivamente 20°, 25°, 30°, 35°, 38°. La acción de los rayos paralelos a la superficie (la menor intensidad luminosa) da una energía de asimilación que crece con la temperatura hasta 38°, tanto en las plantas umbrófilas *(Tilia)* como en las plantas umbrófobas *(Robinia, Betula)*. La acción de los rayos con una inclinación de 45° (intensidad luminosa media) da una ener-

gía asimiladora que, en todas las especies en general, aumenta con la temperatura hasta un valor máximo; después disminuye a partir de cierta temperatura, diferente en las diversas especies. La curva baja mucho más rápidamente para las especies umbrófilas *(Abies, Picea, Taxus, Tilia)* que para las especies umbrófobas *(Pinus, Robinia, Betula)*.

Con la mayor intensidad luminosa (iluminación con ángulo de 90°), se observan todavía las mismas variaciones, pero más claramente manifiestas. Resulta de esto que la luz y el calor actúan, en general, en el mismo sentido en la energía asimiladora. Para la luz, como para el calor, existe una intensidad óptima, por encima de la cual la energía asimiladora se amortigua.

Las diferentes especies, en condiciones idénticas de iluminación y de temperatura, asimilan, pues, con una energía muy desigual. Esta desigualdad debe atribuirse a la mayor o menor concentración del pigmento verde en los granos de clorofila de estas diferentes especies (Lubimenko).

La cantidad de gas carbónico absorbido por la hoja depende de la intensidad de la iluminación, de la temperatura de la hoja y de la presión del gas carbónico del aire. Para cada temperatura, existe una proporción máxima bien determinada de carbono asimilado. Es necesario, en cada caso particular, apreciar mediante experimentos especiales si el aumento que tiene la asimilación procede del aumento de la intensidad luminosa o del de la temperatura (Blackman y Matthœi, 1905).

Cuando una planta experimenta variaciones considerables de temperatura en el intervalo de veinticuatro horas, se observan curiosas particularidades relativas a la asimilación. Se pueden provocar artificialmente, en los vegetales del llano, los caracteres que presentan los vegetales que viven en la región alpina haciéndoles experimentar una alternativa diaria de temperatura comparable a la que se produce en las regiones elevadas de las montañas. Basta para esto poner estos vegetales en una nevera durante la noche. Se observa entonces que asimilan más, por unidad de superficie, que los vegetales de la misma especie en las condiciones normales (Bonnier).

Influencia de la proporción de agua de la planta en la asimilación.—La intensidad de la asimilación es correlativa de la cantidad de agua que contiene el órgano verde. En el aire seco, la asimilación es más débil que en el aire húmedo. Cuando la cantidad del agua que llega a la planta procedente del suelo es suficiente, la planta, sobre todo durante los días cálidos del verano, se marchita: los estomas se cierran, la asimilación se amortigua; hasta puede quedar provisionalmente suspendida hasta el momento en que la planta habrá recobrado su primitiva turgescencia. Examinaremos por otra parte estos hechos cuando trataremos de la transpiración.

La pérdida de la función clorofiliana es absoluta en las hojas completamente desecadas, aun cuando a menudo persista el color verde con su intensidad primitiva. Respecto de este punto, ciertos musgos y ciertos líquenes resisten muy bien a la desecación, aun prolongada: la asimilación recobra su primitiva intensidad cuando el vegetal vuelve a estar en contacto con el agua.

El gas carbónico es absorbido por las hojas con una energía que compensa su rareza en la atmósfera normal (Dehérain y Maquenne). La cantidad absorbida varía con la especie considerada; pero, está en estrecha relación con la proporción de agua que contiene la hoja.

Coeficiente de absorción del ácido carbónico

	Temperatura	Bonetero viejo	Lilas	Bonetero joven	Laurel	Trébol	Agua pura
Para 1 gr. de hojas	0°	1,08	1,23	1,29	1,35	1,40	»
	5°	0,95	1,13	1,13	1,16	1,23	»
	10°	0,81	0,98	0,98	1,01	1,07	»
	15°	0,70	0,87	0,89	0,88	0,94	»
	20°	0,61	0,75	0,75	0,77	0,82	»
Para 1 gr. de agua de las hojas	0°	1,63	1,70	1,75	1,74	1,81	1,80
	5°	1,42	1,50	1,48	1,54	1,58	1,45
	10°	1,22	1,31	1,30	1,31	1,37	1,19
	15°	1,08	1,17	1,15	1,16	1,20	1,00
	20°	0,91	1,01	1,00	1,01	1,07	0,90
Agua en 100 partes de hojas. .		66,3	74,4	75,4	76,4	77,7	

Según Dehérain y Maquenne (1886), la absorción del gas carbónico por las hojas es extremadamente rápida: así se explica cómo

pueden éstas absorber las escasas cantidades de este gas contenidas en el aire. Es notable que el coeficiente de absorción del gas carbónico por el agua de las hojas sea, en los límites ordinarios de temperatura, superior al coeficiente de solubilidad del mismo gas en el agua pura.

Influencia de la proporción de sales del medio en la asimilación.—Hay ocasión de examinar, en las plantas acuáticas, cómo se comporta la asimilación en presencia de disoluciones salinas. Hemos visto ya qué es lo que debe entenderse por *plasmolisis:* cuando la concentración de una solución salina es tal que, puesta en contacto con una célula vegetal, hace cesar la turgescencia, se dice que hay plasmolisis. La asimilación puede efectuarse aun cuando haya plasmolisis, pero queda más o menos debilitada: esto es lo que ocurre en las plantas de agua dulce inmergidas en ciertas disoluciones. Las soluciones de nitrato potásico al 0,5 por 100, de cloruro sódico al 0,29 por 100 y de cloruro potásico al 0,37 por 100, que son isotónicas, amortiguan la asimilación clorofiliana en la *Elodoea* (Jacobi).

Plantas terrestres, como el mastuerzo, regadas con agua salada cada vez más concentrada, o con agua de mar, pierden la facultad de producir fécula: además la abundancia de sal va acompañada de disminución de la clorofila (Lesage). La fécula falta también en el tallo y en la raíz cuando se emplea exceso de sal; sin embargo, en el maíz se ha observado lo contrario (Stahl).

VIII

MEDICIÓN CUANTITATIVA DE LA ASIMILACIÓN CLOROFILIANA

Resumiremos aquí muy brevemente los cálculos que se han hecho relativamente a la cantidad de materia vegetal formada durante la asimilación clorofiliana.

Las hojas de *Rubus,* iluminadas por una luz eléctrica situada a 31 cm. y equivalente a la luz difusa de un día claro, fijan 1,54 gr. de fécula por hora en 1 m² de superficie (riqueza de la atmósfera en $CO^2 = 0{,}3$ por 100).

En una hora, y en 1 m² de superficie, las hojas de *Helianthus* producirían 1,8 gr. de materia seca, las de *Cucurbita* 1,5 gr., respecto de las proporciones en que el gas carbónico se halla en el aire (Sachs). Se puede calcular, según éste, que una planta cuyas hojas

presentasen una superficie de 1 m² asimilaría en tres meses, con una iluminación de doce horas diarias por término medio, una cantidad de materia seca de unos 2 kilogramos. La superficie de las hojas de los árboles que forman un bosque es mucho más considerable que la superficie del suelo en que estos árboles tienen sus raíces: se puede comprender, por lo tanto, la enorme cantidad de materia vegetal que es elaborada durante el período de vegetación activa de las plantas en general.

No debe olvidarse que existen grandes variaciones en la producción de la materia vegetal: estas variaciones son debidas a la naturaleza de la planta, a la proporción de abonos puesta a su disposición y a la proporción de humedad que pueden utilizar. Una de las mayores producciones vegetales que se pueden citar en Francia es la del *maíz como forraje*. Una hectárea de esta planta puede producir, en buenas condicionos, 80000 kilogramos de materia verde, o sean 10000 kilogramos de materia seca.

No debe confundirse el peso de la *materia seca total* elaborada con el de los hidratos de carbono solamente.

Según Sapoznikoff. se formaría en las hojas la siguiente cantidad de *hidratos de carbono* por metro cuadrado y por hora:

Helianthus	(cielo sin nubes)	0gr,729
	(cielo claro, con algunas nubes)	0gr,594
	(muchas nubes)	0gr,379
	(cielo cubierto)	0gr,140
Cucurbita	(cielo sin nubes)	0gr,403
	(cielo cubierto)	0gr,298

Según vimos, Sachs había señalado 1,8 gr. para el *Helianthus* y 1,5 gr. para la *Cucurbita*. Este desacuerdo procede de que Sachs habría determinado, no la cantidad de hidratos de carbono formados, sino el *aumento total de la materia seca*.

Nunca se utiliza más que una pequeña parte de las radiaciones solares en la descomposición del gas carbónico. Para producir con una muy buena asimilación, en 1 m² de superficie de hojas de *adelfa*, 0,000535 gr. de fécula en un segundo (1,926 gr. por hora), se requiere un gasto de energía de 2,2 calorías (el calor de combustión de 1 gr. de fécula es igual a 4217 calorías). Esta cifra es inferior a la centésima parte de la energía total de la luz solar, que representa, según Pouillet, 333 calorías para 1 m² de superficie y durante un segundo en un hermoso día de verano. Según Detlefsen, el trabajo de la descomposición del gas carbónico absorbe de 0,3 a 1,1 por 100 de la energía total de las radiaciones luminosas (Pfeffer).

Citemos, además, el siguiente cálculo, debido a Brown:

Una hoja de *Helianthus*, expuesta al sol en un hermoso día del mes de agosto, recibiría una cantidad de energía próxima

a 600000 calorías por metro cuadrado y por hora. Mientras duró el experimento (cinco horas) la transpiración llegó a 275 gr. de agua por metro cuadrado y por hora, y la formación de hidratos de carbono a 0,8 gr. para las mismas unidades. La vaporización de 275 gr. de agua exige 166800 calorías, y la producción de 0,8 gr. de hidratos de carbono exige 3200 (tomando 4000 calorías en números redondos como calor de combustión medio de 1 gr. de hidratos de carbono). Se ve, pues, que la hoja ha absorbido y transformado en trabajo interno aproximadamente 28 por 100 de la energía total que ha recibido: 27,5 por 100 que sirven para la vaporización del agua y 0,5 por 100 tan sólo que se utiliza para la asimilación.

A la luz difusa intensa la hoja posee un coeficiente económico mucho mejor.

En un caso semejante, en que la energía total recibida por la hoja podía ser evaluada en 60000 calorías por metro cuadrado y por hora, Brown ha encontrado una cantidad de agua evaporada igual a 96 cm^3, mientras que se formaban 0,41 gr. de hidratos de carbono.

Las 95 centésimas de la energía incidente han sido, pues, utilizadas, y 2,7 por 100 de esta energía han sido empleadas en la asimilación en vez de 0,5 por 100 en el ejemplo anterior.

Si se opera en atmósferas enriquecidas artificialmente de gas carbónico, se aumenta el rendimiento de la hoja por lo que se refiere a la energía permanente que ella acumula en forma de hidratos de carbono. En el aire que contenga cinco veces y media la proporción de gas carbónico del aire normal, una hoja directamente asoleada daría cifras que conducen al coeficiente de 2 por 100 en vez del 0,5 que da el aire ordinario.

XI

¿PUEDE SERVIR EL CARBONO PARA LA NUTRICIÓN DE LAS PLANTAS VERDES EN OTRA FORMA DISTINTA DE LA QUE TIENE EN EL GAS CARBÓNICO?

En la inmensa mayoría de los casos, la intervención de la clorofila es indispensable para que una planta pueda descomponer el gas carbónico separando de él el carbono. Existen, sin embargo, ciertas bacterias incoloras que se comportan como la clorofila: los mejor estudiados de estos microorganismos son la bacteria que convierte el nitrógeno amo-

niacal en nitrógeno nitroso y la que transforma el nitrógeno nitroso en nitrógeno nítrico (Winogradsky).

Otra cuestión se nos presenta ahora. En las condiciones naturales en que viven las plantas verdes, que introducen sus raíces en un medio que contiene carbono orgánico, restos de vegetaciones anteriores, podría ser que estas plantas no solamente tomasen del suelo los elementos minerales que les son indispensables, sino también cierta cantidad de materia orgánica. Esta palabra, *materia orgánica del suelo*, representa un conjunto extremadamente complejo de los cuerpos más diversos. La experiencia enseña que, si se pone tierra de labor encima de la membrana de un dializador y se inmerge éste en agua destilada, esta última toma color amarillo de ámbar. Si se evapora luego este líquido coloreado, deja un residuo formado sobre todo por materias salinas, pero que contiene, además, una substancia carbonada, que se ennegrece cuando se calienta el residuo de que tratamos.

Ya que la materia orgánica se difunde a través de la membrana de un dializador, esta materia puede penetrar, a lo menos en algunos casos, a través de los tejidos de la raíz y no dejar de ser provechosa para la nutrición de la planta que la ha absorbido.

Estas ideas están, sin duda, en contradicción con las de Liebig, quien no admitía que debiesen ser calificadas como alimentos más que las solas materias minerales. Pero, existen observaciones antiguas, apoyadas por recientes experimentos, que no parecen ser siempre favorables a las ideas de Liebig. Por esto conviene examinar con cuidado si las plantas verdes pueden, a veces, tomar su carbono de una fuente distinta del gas carbónico.

Absorción de la materia orgánica por los vegetales provistos de clorofila.—Cuando un vegetal no posee clorofila (hongos, levaduras, mohos) está obligado a tomar el carbono que necesita de una fuente distinta del gas carbónico. Las levaduras y los mohos toman este carbono de un alimento hidrocarbonado en el cual se desarrollan. La elaboración de la materia seca de estos vegetales inferiores se hace a expensas de los mismos alimentos que reclaman los vegetales superiores. Estas dos clases de vegetales necesitan las mismas materias minerales fijas: potasio, calcio, hierro,

manganeso, fósforo, magnesio, nitrógeno (en forma de nitratos o de sales amoniacales); no difieren más que por la manera como toman del medio su carbono. En los hongos de nuestros bosques es bien evidente que el alimento carbonado se halla en el suelo en que se desarrollan o en los restos de las plantas muertas cuyo conjunto constituye lo que se llama *humus*. El vegetal provisto de clorofila crece de una manera completamente independiente de las combinaciones carbonadas ya formadas que pueden ponerse a su disposición. El vegetal desprovisto de clorofila depende en absoluto del carbono *combinado*.

¿Existen en realidad dos clases tan marcadamente separadas de vegetales: la planta que posee clorofila—y que, conforme a la experimentación directa, nunca toma su alimentación más que de los medios minerales—no es capaz de absorber en un medio natural, como la tierra de labor, algunos elementos carbonados? Vamos a ver cómo realmente así ocurre.

Vegetales saprofitas, vegetales parásitos. — *A priori*, parece que ciertos vegetales verdes deben tomar del suelo a lo menos una parte de sus alimentos carbonados. En efecto, existen plantas en las cuales la distribución de la clorofila es irregular, otras cuya coloración, en vez de ser verde, es verde pálida o violácea. El microscopio revela en ellas la presencia de granos de clorofila, pero a menudo en cantidad bastante pequeña cuando se compara, respecto de una superficie determinada, la difusión de este pigmento en estas plantas y en otras que presentan una coloración francamente verde.

Se da el nombre de *mixótrofos* a los vegetales que toman una parte de su carbono al medio en que se desarrollan, el de *autótrofos* a los vegetales que pueden alimentarse exclusivamente a expensas del gas carbónico de la atmósfera, y el de *heterótrofos* a los vegetales que toman la totalidad de su carbono de compuestos carbonados ya formados. Muchas plantas autótrofas son, en ciertas condiciones, mixótrofas. Hasta se puede decir que todas las plantas autótrofas son, al comenzar su existencia, heterótrofas, durante el fenómeno de la germinación. Se llama *saprofita* una planta cuando es capaz de nutrirse de materias vegetales o animales en vías de descomposición. En este concepto, todos los vegetales desprovistos de pigmento verde (criptógamas o fanerógamas)—como los hongos, *Monotropa*, *Lathrœa*, etc., o que sólo tengan poca clorofila *(Neottia nidus-avis)* —que viven en un suelo rico en humus (suelo de los bosques), son *saprofitas*.

La planta es *parásita* cuando vive a expensas de otra planta tomando de ella una parte de sus alimentos y no cediéndole nada en cambio. El parasitismo puede ser total (bacterias) o parcial *(muérdago, Rinanteas)*. Sólo nos ocuparemos en este parasitismo parcial. La planta hospitalaria suministra, en este último caso, agua y sales minerales; la función clorofiliana se ejerce integralmente: tal es el caso del muérdago. A veces el parasitismo es más completo; la

planta, aun cuando contenga clorofila, no asimila el gas carbónico más que muy imperfectamente, no siendo productiva esta asimilación más que cuando la iluminación es intensa y la temperatura poco elevada *(Rhinanthus crista-galli)*. Hay casos en que el parasitismo es menos completo *(Thesium, Pedicularis)*. Estas últimas plantas tienen una función clorofiliana cuya actividad, a igualdad de superficie, varía entre el tercio y el quinto de la de las plantas autótrofas propiamente dichas (Bonnier). Este autor opina, con razón, que existen en las plantas parásitas clorofílicas, desde el punto de vista de sus cambios gaseosos, todos los grados intermedios entre las que extraen de la planta hospitalaria casi todos los elementos que necesitan y las que no le quitan más que agua y substancias salinas.

Molliard (1913) ha podido experimentalmente convertir a ciertas plantas en semiparásitas. Para ello, se introduce la radícula del *Lepidium sativum*, de una longitud de 3 a 4 mm., en un pequeño orificio hecho mediante una aguja en el eje hipocotíleo de una judía cuyos cotiledones están distendidos, y se pone el conjunto en una campana cuya atmósfera está saturada de vapor de agua. El *Lepidium* se desarrolla normalmente y su raíz digiere los tejidos que se oponen a su paso.

Simbiosis. Micorrizas.—Cuando dos o más plantas se asocian entre sí, ya sea por simple contacto, ya sea compenetrándose, y, sin dañarse mutuamente, cambian ciertos productos nutritivos indispensables, se dice que hay *simbiosis*. La simbiosis es, pues, beneficiosa para el conjunto de la asociación. Citemos, entre otros ejemplos de simbiosis, los más comunes: los *líquenes*, formados por la asociación de un hongo desprovisto de clorofila y un alga verde; la asociación del bacilo radicícola que vive en las raíces de las leguminosas y proporciona a éstas el nitrógeno que necesitan, mientras que él recibe de la leguminosa elementos hidrocarbonados; la asociación de ciertos elementos micelianos con las raíces de muchos árboles y arbustos *(micorrizas)*.

Esta invasión normal de ciertas raíces por hongos no es un fenómeno de parasitismo. Si estos hongos reciben de la planta clorofílica, en cuyas raíces viven, alimentos hidrocarbonados, en cambio suministran a esta planta agua y substancias minerales, que elaboran después de haberlas extraído del suelo, y, sobre todo, materias nitrogenadas de forma desconocida y de composición variable, que toman directamente del humus del suelo.

Estas micorrizas pueden recubrir simplemente de una red de filamentos las raíces con las cuales están en contacto (castaño, roble, abedul) y, penetrando a veces en la corteza, producir nudosidades radiculares semejantes a las que se observan en las raíces de las leguminosas (abedules, *Myrica*). En otros casos, los hongos penetran en el mismo interior de las células corticales (micorrizas de orquídeas, de ericáceas).

El papel de las micorrizas, entrevisto por Pfeffer, ha sido estudiado sobre todo por Frank.

Si las micorrizas son indispensables para la planta desprovista de clorofila, pueden ser también de gran ayuda para ciertas plantas verdes.

Difusión de las micorrizas.—Esta asociación de ciertos hongos con las raíces de las plantas es común sobre todo en los suelos ricos en humus; disminuye con frecuencia y hasta tiende a desaparecer cuando disminuye la riqueza del suelo en humus.

Según Stahl, tendiendo la simbiosis de las micorrizas con las raíces a desaparecer en los suelos bien provistos de materias nutritivas directamente absorbibles por las plantas, es probable que la existencia de esta simbiosis esté íntimamente relacionada con la dificultad que experimenten los vegetales en apoderarse de las materias alimenticias que el suelo contiene.

Existen plantas que son *micótrofas facultativas* (algunas leguminosas, rosáceas, ranunculáceas, compuestas); otras son *micótrofas obligatorias* (vegetales desprovistos o mal provistos de clorofila, coníferas, haya hojaranzo, roble, etc.).

El humus contiene una cantidad innumerable de filamentos micelianos. Estos absorben la parte más rica de las materias salinas del medio en que las plantas se desarrollan. Se establece una especie de lucha para las materias salinas entre los hongos y las plantas verdes en los suelos humíferos. Las plantas no adaptadas a estos medios abundantemente provistos de materias húmicas pueden sufrir a causa de la presencia de hongos en ellos esparcidos. Una planta autótrofa (lino, mostaza), puesta en un medio humífero, se desarrolla mucho mejor cuando el medio ha sido esterilizado que cuando no lo ha sido. En efecto, tal planta no puede luchar para su nutrición mineral con los hongos. Las micótrofas son menos ricas en materias salinas que las autótrofas; en las plantas con micorrizas, la reacción de los nitratos es siempre negativa, mientras que las autótrofas absorben muy bien estas sales.

En resumen, las plantas micótrofas reciben, por el hecho de la simbiosis, sales minerales, pero también compuestos orgánicos.

Asimilación en algunas orquídeas.—Existen orquídeas indígenas, como la *Goodyera repens,* francamente saprofitas, que descomponen el gas carbónico a la luz tan enérgicamente como las demás orquídeas que no viven en el humus. Otras, como la *Neottia nidus-avis,* planta no verde, evidentemente deben vivir a expensas de las micorrizas que recubren sus raíces; porque, a la luz, la asimilación clorofiliana de esta última planta es insignificante. Si, pues, esta orquídea vive en simbiosis forzada, difícil es decir si la *Goodyera* se aprovecha de la simbiosis, ya que asimila a la luz como todas las plantas verdes. Griffon ha encontrado en el *Limodorum*

abortivum, hermosa orquídea de 60 a 80 cm. de altura, una planta intermedia entre las dos orquídeas anteriores. El *Limodorum* tiene un matiz violáceo en sus hojas y en su tallo; no contrae adherencia alguna con las raíces de los árboles, no es parásita, sino solamente saprofita como la *Neottia.* Pues bien, esta planta, a pesar de su color violeta, posee clorofila. De todos modos no desprende oxígeno a la luz; tal vez asimila, pero la asimilación está enmascarada por la respiración.

Observaciones que demuestran que las plantas del gran cultivo pueden absorber directamente la materia orgánica del suelo.—Dehérain ha insistido en el hecho de que la materia carbonada desempeña en el suelo un papel importante, puesto que, si se devuelven a un suelo agotado por el cultivo, y momentáneamente estéril, no sólo las sales minerales que ha perdido por la exportación de sus cosechas, sino también el elemento carbonado que ha desaparecido poco a poco por oxidación, este suelo recobrará su antigua fecundidad. No es, pues, el elemento salino el que falta en algunos suelos, sino el elemento carbonado.

Esto es especialmente claro para los cultivos de cáñamo y de *ray-grass;* estas plantas no dan el máximo de rendimiento más que cuando se añaden al suelo agotado, no sólo sales minerales que le faltan, sino cuando se adiciona, junto con estas sales, materia orgánica (humus del mantillo). De todas maneras, existen plantas que parecen poder prescindir de la adición de materia carbonada y a las cuales basta una restitución mineral al suelo: tal es el caso de la avena, según Dehérain.

Numerosos ensayos de cultivo hechos por Bréal (1894), mediante el humato potásico, enseñan que el elemente orgánico de esta sal penetra en el vegetal, al mismo tiempo que el elemento mineral, y la planta se aprovecha de él.

Parece, pues, que, a lo menos en algunos casos, la materia carbonada compleja del suelo es absorbida por las raíces, luego elaborada por la planta, y que aumenta el peso seco de la materia vegetal. Tendremos ocasión de volver más adelante a este punto tan interesante.

Nutrición de la planta verde por medio de compuestos carbonados solubles.—Los experimentos precedentes, efectuados en un medio complejo como es la tierra de labor, o mediante soluciones mal definidas como las que contienen materias húmicas, dejan en el espíritu dudas respecto de la posibilidad de la nutrición de las plantas superiores a expensas de compuestos carbonados preformados.

Por esto es preferible intentar estos ensayos de nutrición acudiendo a substancias hidrocarbonadas bien definidas: los azúcares, tales como la glucosa y la sacarosa, parecen indicados para este

objeto. Vamos a exponer los hechos importantes obtenidos en este sentido.

J. Laurent (1897) cultiva semillas de maíz en una solución nutritiva exclusivamente mineral. La planta se desarrolla normalmente hasta la florescencia. Se opera del mismo modo, pero añadiendo además a las soluciones minerales un peso determinado de glucosa en vasos de cultivo puestos debajo de una campana esterilizada provista de aberturas tapadas con algodón en rama, a fin de no impedir la circulación del aire.

Al terminar el experimento, siempre en condiciones de absoluta esterilidad microbiana, se encuentra que el peso del azúcar absorbido está en relación con el peso seco de la planta. El maíz puede también desarrollarse en una atmósfera desprovista de gas carbónico y aumentar el peso de su materia seca: es probable entonces que la asimilación clorofiliana no queda absolutamente suspendida, sino que se efectúe a expensas del gas carbónico suministrado por la misma planta: de manera que las únicas fuentes de carbono son las reservas de la semilla y la glucosa que se proporciona a las raíces. Y, aun en la obscuridad, puede crecer la planta, si bien que escasamente.

Bouilhac (1898) ha logrado nutrir a un alga verde, el *Nostoc punctiforme,* en una solución puramente mineral, hasta exenta de nitrógeno, porque esta alga, como veremos más adelante, absorbe directamente el nitrógeno atmosférico. A la solución mineral se añade glucosa (en cantidad inferior a 1 por 100). Cuando la planta está bien iluminada, el peso de la materia seca puede ser cuádruple del que suministra la solución mineral sola. Si la iluminación es insuficiente, los *Nostoc* que viven en una solución mineral pura no aumentan de peso. Los que se desarrollan en una solución adicionada de glucosa, por el contrario, asimilan el carbono de la materia azucarada y aumentan de peso. Además, su color verde es comparable al de los *Nostoc* bien iluminados. Por último, si se hacen desarrollar los *Nostoc* en una solución con glucosa en la obscuridad absoluta, el matiz de estas algas es de un verde más pálido, pero la glucosa todavía es asimilada, y el peso de la materia seca aumenta. En el caso de una iluminación insuficiente se puede substituir la glucosa por la sacarosa, la maltosa o la fécula.

Otra alga verde, el *Cystococcus humicola,* estudiada por Charpentier (1903), se comporta del mismo modo. Absorbe la glucosa a la luz difusa; los rayos solares directos le son desfavorables. Cultivada en una corriente de aire exento de gas carbónico y a la luz difusa, esta alga permanece verde. Al cabo de algunos días, el peso de la materia seca aumenta de 400 miligramos para 642 miligramos de glucosa desaparecida. En la obscuridad, el desarrollo del alga todavía sigue, pero es más lento. Por lo demás, la función clorofiliana se ejerce bien en este vegetal. Este posee, en cierto modo, una doble asimilación: toma carbono de la glucosa, como lo haría una mucedínea no verde, y gas carbónico del aire.

El cálculo de la nutrición en esta alga enseña que utiliza 65 por 100 del carbono que se le ofrece, mientras que las mucedíneas no utilizan más que 40 por 100, y las plantas superiores unos 100 por 100.

La levulosa puede reemplazar a la glucosa; la sacarosa es menos conveniente.

He aquí la reseña sumaria de los experimentos de Mazé y Périer (1904), en los cuales se ve a una planta superior, alimentada con azúcar, dar pesos de materia iguales y aun mayores que los que dan las mismas plantas cuando se desarrollan en un suelo muy fértil. Estos experimentos han sido hechos con el maíz; han sido efectuados en medios esterilizados, con granos desposeídos de gérmenes microbianos. Estos granos, después de su esterilización, son introducidos en tubos de ensayo esterilizados, donde descansan sobre tapones de algodón húmedo. Cuando los tallos han alcanzado la longitud de 15 a 20 cm., se les pone en frascos de cuello estrecho, provistos de un grueso tapón de algodón, de 2 a 3 litros de cabida, llenos de una solución nutritiva esterilizada. Estos frascos tienen una tubuladura lateral que permite la introducción del líquido. Se deja desarrollar la planta a la luz, en el aire libre y no debajo de campana, porque con esta última disposición, si se atenúa o suprime la función clorofiliana, la planta vegeta sin embargo en una atmósfera saturada de agua: pero, nada prueba que el gas carbónico que produce por su respiración sea integralmente substraído a la síntesis clorofiliana, aun en presencia de soluciones alcalinas colocadas en la campana. El presente experimento tiene simplemente por objeto comprobar una asimilación activa de substancias hidrocarbonadas puestas a disposición de las raíces de un vegetal, y ver en qué medida el peso seco de la planta supera al de plantas semejantes que vegetan en un suelo de muy buena calidad.

La solución mineral empleada es del tipo de las soluciones completas; los hidratos de carbono añadidos además eran, en una serie, el azúcar de caña (32 gramos); en la otra, la glucosa (35 gramos). Al cabo de veinticuatro o treinta días, se pesan las plantas, después de haberlas desecado, y se determina la cantidad de materias azucaradas que quedan en disolución.

El experimento permite deducir que, vegetando el maíz en una solución mineral completa, adicionada de azúcar o de glucosa, absorbe y asimila muy activamente estas substancias. Dada la parte más o menos considerable tomada por la función clorofiliana en estos ensayos, ya que la planta extiende sus hojas en el aire libre, se observa que no existe ninguna correlación entre el peso del hidrato de carbono asimilado y el peso seco del vegetal.

Las plantas que han vegetado en las condiciones que hemos expuesto se desarrollan más aprisa que las plantas testigos a las cuales sólo se han ofrecido soluciones puramente minerales y que sólo han tomado su carbono del gas carbónico del aire atmosférico.

Éstas, por su parte, ganan a las plantas que se desarrollan en pleno campo en un suelo muy fértil.

Mazé (1911) ha observado ulteriormente que el maíz puede absorber la fécula, la peptona y el humato amónico. En el caso de la fécula, la solución no contiene azúcares reductores ni amilasa: la fécula parece ser absorbida tal cual es. Cuando la solución nutritiva contiene sacarosa, se encuentra azúcar invertido en el líquido, aun cuando éste se vuelva alcalino; pero, no se puede reconocer la presencia de sucrasa. Ravin (1912) ha podido comprobar la asimilación, por parte de las fanerógamas, de los ácidos málico, tartárico, cítrico, succínico y oxálico. Es cierto que, según Molliard (1912), semillas de rábano esterilizadas, cultivadas en mantillo esterilizado a 120°, no asimilaron apenas más carbono que los rábanos testigos que vivían en un medio puramente mineral.

Si los experimentos positivos de que se acaba de tratar fuesen confirmados luego, sobre todo en lo que se refiere a la absorción—y necesario es añadir, la asimilación—del humus, estos experimentos tendrían una gran trascendencia. En efecto, las plantas verdes encontrarían así un suplemento de carbono en el que les proporcionaría el humus. Además, tomarían de la materia húmica natural una parte de su nitrógeno. Resultaría, pues, que no sería necesario que este nitrógeno, en la forma compleja que afecta en el humus, se transformase, a lo menos en su totalidad, en nitrógeno mineral (amoniacal y nítrico) para constituir un alimento utilizable. Pero, el problema será particularmente difícil de resolver cuando se trate de definir la naturaleza de las reacciones que deben experimentar el carbono y el nitrógeno de una materia tan condensada como el humus para servir para la elaboración de los hidratos de carbono y de los albuminoides en el interior de los tejidos de un vegetal.

Resumen de la función clorofiliana.—1.° Todo vegetal que posee clorofila es capaz de descomponer el gas carbónico contenido en la atmósfera y de asimilar su carbono.

2.° A la absorción de un volumen de gas carbónico corresponde el desprendimiento de un volumen igual de oxígeno.

3.° El carbono se une, en el vegetal, a los elementos del agua para formar hidratos de carbono $(CH^2O)^n$. El primer término de la asimilación parece ser el aldehido metílico: éste se polimeriza muy rápidamente y engendra la glucosa, la sacarosa y finalmente la fécula.

4.° La clorofila sólo descompone el gas carbónico con el concurso de ciertos agentes exteriores. La luz solar es indis-

pensable para que se efectúe este fenómeno; el máximo de acción reside en los rayos amarillo y anaranjado del espectro, situados entre las rayas *B* y *C*. Es necesario cierto grado de temperatura para que se realice el fenómeno asimilador; existen, pára cada planta, un mínimo y un máximo de temperatura más allá de los cuales no hay asimilación.

5.º Muchas plantas verdes son capaces de absorber ciertas materias carbonadas puestas a disposición de sus raíces y de aumentar así el peso de su materia seca.

CAPÍTULO IV

FORMACIÓN DE LOS PRINCIPIOS INMEDIATOS TERNARIOS

Papel de las diastasas en el organismo vegetal: clasificación de las diastasas.—Estudio de los hidratos de carbono; grupo de las glucosas, grupo de las poliglucosas.—Principios inmediatos que no tienen la composición de los hidratos de carbono; materias grasas; esencias; gomorresinas; taninos; glucósidos.

I

PRINCIPIOS INMEDIATOS TERNARIOS CONTENIDOS EN LOS VEGETALES

La síntesis clorofiliana produce, según hemos visto, hidratos de carbono. El primer representante de esta importante clase de compuestos es verosímilmente la glucosa. Esta sufre una serie de condensaciones que la convierten, primero en sacarosa y después en fécula. Además, la condensación de los hidratos de carbono primitivos, de fórmula simple, conduce a la formación de celulosa. Esta, que es extremadamente abundante en el reino vegetal, no constituye probablemente una substancia única, y conviene, como veremos más adelante, hablar más bien de las *celulosas* que de la celulosa.

Además, los vegetales contienen numerosos principios que no son hidratos de carbono: se encuentran en ellos materias grasas, ácidos, resinas, esencias, taninos, etc. Todas estas substancias derivan *indirectamente* de la función de asimilación: por esto es indispensable hacer ahora un estudio

sumario de los compuestos ternarios que contiene la planta y probar de interpretar su presencia desde el punto de vista fisiológico.

Examinaremos rápidamente algunas de las propiedades de estos diferentes cuerpos, aconsejando al lector que vea las obras especiales para la descripción de los pormenores (véase especialmente: *Les sucres et leurs principaux dérivés*, por L. Maquenne, París, 1900).

Recordaremos que Chevreul llamó *principios inmediatos a los compuestos de los cuales no pueden separarse varias especies de materia sin alterar evidentemente su naturaleza* (1).

Antes de principiar el estudio de los principios inmediatos, es necesario exponer algunas nociones muy sucintas relativas a las propiedades generales de las diastasas. Según veremos a continuación, estos agentes, nacidos del organismo viviente, intervienen continuamente en las múltiples metamorfosis que sufren los materiales constitutivos del vegetal.

II

PAPEL DE LAS DIASTASAS EN EL ORGANISMO VEGETAL

En la pág. 44 del primer capítulo de esta obra, hemos hablado ya, desde un punto de vista general, de los fenómenos diastásicos. En la mayoría de los casos, cada diastasa segregada por la célula posee una *individualidad propia* y no es capaz de actuar más que sobre una sola substancia y en sentido determinado.

No se trata aquí de enumerar todas las diastasas y estudiar al pormenor sus propiedades. Sin embargo, dada la

(1) El concepto de *principio inmediato* es en cierto modo un concepto histórico. En muchos casos, principio inmediato es sinónimo de especie química que existe formada en la naturaleza; por ejemplo, el azúcar de caña es a la vez principio inmediato y especie química. En cambio, si en una planta existe un alcaloide en estado de sal, se consideraban como principios inmediatos el ácido y la base, no la sal resultante de su combinación.—C. B.

importancia de primer orden que se debe conceder a estas materias, es necesario conocer el modo de actuar de las más esparcidas de ellas que toman parte en el desarrollo de la planta.

Las diastasas desempeñan un papel importante en los fenómenos de digestión celular y de asimilación. Gracias a su acción continua estas substancias almacenadas, inmovilizadas durante cierto tiempo, en tales o cuales células, entran en disolución, se vuelven difusibles y pueden así moverse en el interior del vegetal. Basta para ello citar el fenómeno bien conocido de la germinación de las semillas y el de la germinación espontánea de los tubérculos, bulbos y cebollas.

Tal vez convendría no hablar de las diastasas, en cuya composición entra probablemente el nitrógeno, hasta después de haber expuesto la historia de los compuestos nitrogenados. Pero, la importancia de los fenómenos diastásicos, como transformadores de las materias hidrocarbonadas, es tal que es preferible señalar desde ahora, e inmediatamente después de la función clorofiliana, el papel que desempeñan las principales enzimas en las numerosas metamorfosis que se efectúan durante la vida del vegetal.

Naturaleza y composición de las enzimas.—¿Cuál es la naturaleza íntima de las enzimas? Probablemente son éstas substancias cuaternarias (formadas por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno). Tal vez contienen, además, algo de fósforo y de azufre. Sin embargo, según muchos autores, no contendrían más que carbono, hidrógeno y oxígeno.

La causa de esta variabilidad en su composición podría ser debida: 1.°, a una diferencia real entre las diastasas, ya que éstas provocan fenómenos que varían enormemente de una enzima a otra; 2.°, a una dosis de impurezas de que es imposible desposeerlas, impurezas que proceden del medio en que se ha formado la diastasa, así como del método de extracción empleado. Citemos las siguientes cifras: su proporción de carbono oscila entre 43 y 47 por 100 de la materia desecada; la del nitrógono es todavía más variable: a

veces este último cuerpo falta o poco menos. Algunas enzimas no contendrían más que de 4 a 6 por 100; otras (tripsina, pepsina) contendrían tanto nitrógeno como las materias albuminoides propiamente dichas (16 a 18 por 100).

La constitución química de una enzima no corresponde forzosamente a la de un albuminoide, como se ha dicho algunas veces, porque las reacciones de la albúmina que presentan ciertas enzimas podrían ser atribuídas a una albúmina arrastrada mecánicamente por precipitación y que no tuviese nada de común con la substancia activa.

Cuando se calientan fuertemente, las enzimas dejan siempre una pequeña cantidad de cenizas: esto es altamente importante y volveremos a ello más adelante. Se deben incluir las enzimas en la categoría de las *substancias coloides*, definidas como dijimos anteriormente. Existen en los líquidos que las contienen en estado de suspensión en partículas finísimas, ocupando así una gran superficie. Hasta parece que la parte orgánica, es decir, combustible, de la enzima no interviene más que para diseminar la substancia mineral que contiene. Esta substancia mineral, cosa notable, por pequeño que sea su peso, es probablemente *la sola que desempeña un papel activo* en los fenómenos en que interviene la presencia de las enzimas; la substancia orgánica con la cual está asociada no le serviría más que de sostén. La desaparición, a lo menos relativa, de la materia mineral cuando se quiere proceder a la purificación de una enzima, lleva siempre consigo una disminución de la actividad de ésta; por el contrario, la adición de ciertas sales refuerza su actividad.

Así se ha podido, con razón, dar al elemento mineral de la enzima el calificativo de *cofermento* (G. Bertrand), para recordar el papel preponderante que conviene atribuirle en los fenómenos en que nos ocupamos aquí. Tendremos ocasión, sobre todo a propósito de las oxidasas, de volver a tratar de estas nociones.

Según G. Bertrand, una enzima sería, pues, un sistema donde entran dos substancias complementarias una de otra. La primera es una materia mineral, capaz por sí sola de producir la reacción considerada: es el *complemento activo*. La segunda, de naturaleza orgánica, alterable por el calor, tiene por objeto aumentar la potencia de reacción de la primera: es el *complemento activante*.

Según algunos autores, las propiedades diastásicas no serían inherentes a tal o cual molécula química, sino que provendrían de un estado particular de un compuesto o de un conjunto de compuestos químicos. Otros experimentadores admiten que una misma enzima sería capaz de producir diferentes acciones hidrolíticas, acciones que

se atribuyen actualmente a la presencia de muchas enzimas. Estas dos últimas afirmaciones están sujetas a crítica y no parece que deban ser adoptadas.

Interpretación de los fenómenos diastásicos; acciones catalíticas o de presencia.—La enzima que produce un desdoblamiento o una hidratación no entra ella misma en reacción: obra, pues, por *simple contacto*. Por esto se han comparado las acciones diastásicas con las *acciones de presencia* o *catalíticas*, conocidas desde largo tiempo en química.

Kirchhoff había observado, desde 1811, la acción catalítica que ejercen los ácidos sobre la fécula; pero, Berzélius es quien, en el terreno de la química mineral, ha dado las primeras noticias.

Se sabe, por ejemplo, que una pequeña cantidad de esponja de platino puede determinar, por su sola presencia, la explosión de una mezcla de hidrógeno y oxígeno, y que esta misma esponja de platino puede descomponer el agua oxigenada en agua y oxígeno. Se sabe también que el hidrógeno se combina a baja temperatura con algunos carburos gaseosos, en presencia del níquel reducido, y que el clorato potásico, calentado con óxido de cobre y hasta con arena, se descompone a una temperatura mucho más baja que cuando se le calienta solo, etc. Todas estas reacciones son fuertemente exotérmicas, y el *agente de contacto* no influye más que para efectuar cierto trabajo preliminar que determina la reacción. «El trabajo preliminar aplicable a la reacción del conjunto resulta ser una fracción muy pequeña, y a menudo hasta infinitesimal, del calor total que desprende la masa en combustión» (Berthelot). Ni el platino, ni el níquel, ni la arena, parecen entrar en reacción: se les encuentra, al terminar el experimento, en el mismo estado que al principio: esto es lo mismo que observamos en la acción de las enzimas. Puede admitirse, pues, la semejanza y, si llamamos *catalizadores* al platino, al níquel y a la arena, hemos de reconocer que *todas las enzimas son catalizadoras*.

Sin embargo, según ha podido demostrarse en cierto número de casos, se forma un *compuesto intermediario*, que, destruído casi en seguida, es regenerado sin cesar.

Observemos que ciertas transformaciones que se efectúan en presencia de una enzima, es decir, de una substancia nacida de la actividad protoplasmática, pueden realizarse en presencia de un *catalizador mineral* produciendo los mismos productos: tal ocurre en la sacarificación de la fécula y en la inversión del azúcar de caña por la acción de los ácidos diluídos (sulfúrico, clorhídrico, etc). Estos ácidos no toman parte en la reacción; actúan siempre en muy escasa

cantidad y se les encuentra sin alterar al finalizar el experimento. De todas maneras, es necesaria aquí la intervención de un nuevo factor; se debe elevar la temperatura.

Se ha podido definir el catalizador de la manera siguiente: es una substancia que, sin aparecer en el producto final de una reacción, modifica su velocidad (Ostwald). Se puede comparar el catalizador a un cuerpo lubrificante, aplicado a los engranajes de una máquina, y destinado a disminuir las resistencias debidas al roce.

Notemos, sin embargo, que no todos los catalizadores son *positivos*, es decir, que no siempre aceleran una reacción en un determinado sentido; existen catalizadores *negativos* (anticatalizadores, catalizadores venenos), que, por el contrario, dificultan o retardan ciertas reacciones.

La analogía entre las enzimas y los catalizadores minerales puede ser llevada todavía más lejos. La experiencia enseña que una enzima a la larga *se gasta*, envejece. Lo mismo ocurre con los catalizadores minerales. El amianto platinado, catalizador que sirve para fijar el oxígeno en el gas sulfuroso con formación de ácido sulfúrico, se altera poco a poco sin que sea posible actualmente encontrar una razón satisfactoria que explique esta alteración.

Tales son los hechos: su explicación ha sido el objeto de numerosas hipótesis.

Recordemos simplemente de lo que antecede las nociones siguientes. Los jugos celulares, mientras dura la actividad específica del protoplasma, están en continua transformación. Las substancias procedentes del exterior, o las que se originan en la célula, no permanecen en ella en su forma primitiva. El protoplasma, a lo menos en ciertos momentos, segrega cuerpos especiales (enzimas) capaces, por su sola presencia, de modificar profundamente el contenido celular sin entrar ellos mismos en reacción. Se ve entonces que una materia insoluble se solubiliza, o recíprocamente; se trata aquí, pues, de una fijación de agua en el primer caso (hidratación, hidrolisis) y, en el segundo caso, de una eliminación de agua (deshidratación). Los productos de la hidratación son a menudo muy variados cuando se trata, por ejemplo, de la acción de ciertas enzimas sobre los *glucósidos*, cuerpos bien definidos que se encuentran en multitud de plantas. Otra enzima puede ser agente de saponificación (hidratación de una materia grasa), otra agente de simplificación de las materias nitrogenadas complejas, conocidas con el nombre de *albuminoides* y contenidas en todos los vegetales; otra, en fin, fija el oxígeno del aire en ciertos principios.

Propiedades generales de las enzimas.—Las enzimas no existen en el jugo de las células en estado de verdadera solución, sino en estado de *emulsión* o de *suspensión*, como los coloides.

La intensidad de la acción diastásica no puede explicarse más que por la existencia de las diastasas en *estado coloide* que les permite, a causa de la forma particular que afectan, ocupar una superficie considerable con un pequeño volumen. Se encuentra también un argumento en favor de esta hipótesis, en el hecho de que la actividad diastásica de un líquido se debilita siempre por repetidas filtraciones.

Sin embargo, las enzimas tal vez no siempre son coloides, puesto que algunas de ellas pueden, sin perder su actividad, atravesar muchos filtros de colodión. A pesar de esto, se definen las enzimas como *catalizadores coloides específicos* (Mlle. Philoche). Un gran número de hechos enseñan que «las propiedades de las diastasas tienden mucho más a aproximarlas a agentes físicos, como el calor y la electricidad, que a compuestos químicos, cuya acción está determinada por la constitución molecular» (Achalme).

La *extracción de las diastasas* puede efectuarse de muchas maneras. Duclaux hace notar que el mejor modo de obtener una diastasa consiste en escoger células que elaboren en abundancia estas substancias y dejarlas exudar durante la vida, fuera de todo fenómeno de maceración propiamente dicha. Si se toma un micelio vigoroso de *Aspergillus niger,* bien desarrollado en el líquido de Raulin, se lava este micelio dos o tres veces haciéndolo flotar en agua destilada, y luego se le mantiene finalmente durante algunas horas en el mismo líquido sin dislocarlo, la planta agotará sus reservas y dejará salir por exósmosis al líquido que la rodea sus diastasas activas, mezcladas solamente con un poco de materia orgánica y con indicios de sales minerales.

Una maceración prolongada determina forzosamente el paso al líquido exterior de materias extrañas, a veces muy abundantes y muy complejas, en medio de las cuales la diastasa está como ahogada. Esto ocurre, *a fortiori,* cuando se trata de aislar una diastasa triturando la totalidad de los tejidos vegetales que la contienen: los más variados elementos celulares quedan así mezclados con el principio activo, el cual no puede ser aislado más que con muchas dificultades de este medio poco homogéneo, aun cuando posee a menudo gran actividad.

Uno de los primeros procedimientos empleados para la extracción de las diastasas del medio que las contiene, procedimiento utilizado después con mucha frecuencia, consiste en precipitar el líquido original con el alcohol. El coágulo que se forma contiene, además de las diastasas, materias minerales, hidratos de carbono y materias albuminoides. Este precipitado, aislado y tratado nuevamente por agua, se disuelve en ella, y se puede efectuar después una nueva

precipitación para purificar poco a poco las diastasas. El segundo precipitado obtenido es menos impuro que el primero; es más activo. Pero, si se renueva muchas veces esta operación, resultan precipitados cada vez menos voluminosos, sin duda, pero también menos ricos en diastasas. No debe dejarse, por lo demás, demasiado tiempo este precipitado en contacto con el alcohol. Una vez filtrado el líquido, se deseca el precipitado en el vacío. Luego se redisuelve en el agua cuando se le quiere emplear.

Relativamente a su solubilidad en el agua, las diastasas presentan grandes diferencias: unas parece que se disuelven fácil y rápidamente en el agua; otras exigen un tiempo más o menos largo.

Las diastasas presentan, por otra parte, la propiedad de poderse *fijar* en un gran número de materias, ya minerales, ya orgánicas: lo que podría explicar la velocidad mayor o menor con que se disuelven en el agua. Este *arrastre* de las diastasas por ciertas substancias es a menudo aprovechado para precipitarlas de su solución acuosa. Basta, en efecto, añadir a ésta una disolución muy diluída de fosfato sódico, y luego una disolución de una sal cálcica: el precipitado de fosfato cálcico insoluble que se forma arrastra consigo la diastasa. Si se recoge este precipitado en un filtro y después se vierte un poco de agua en él, la diastasa se redisuelve conservando todas sus propiedades activas. Los cuerpos minerales precipitantes deben ser, como se comprende, inactivos respecto de la diastasa.

En general, la acción diastásica no es paralizada por la presencia de anestésicos, ni por la de antisépticos; algunas diastasas, sin embargo, son muy sensibles respecto de estos agentes. Una misma célula puede segregar dos diastasas: una de ellas puede volverse inactiva en presencia de un anestésico, como el cloroformo, mientras que la otra conserva sus propiedades intactas. Tal es el caso de la levadura de cerveza. Esta levadura segrega dos diastasas, una que invierte el azúcar de caña y otra que convierte el azúcar invertido en alcohol. La primera resiste al cloroformo; las funciones de la segunda quedan abolidas en contacto con el anestésico. Cada diastasa posee una temperatura de acción *óptima*. Alrededor de 0°, las diastasas apenas actúan; hacia 40°, su acción se manifiesta bien; pero, entre 40 y 55° su actividad es máxima. Más allá de esta última temperatura se nota un retardo manifiesto y, hacia los 90°, toda acción cesa; la diastasa queda definitivamente destruída. Existe, además, para cada fermento, un punto en que este fermento deja de actuar en presencia de los productos que él mismo ha elaborado.

La acción diastásica es más o menos perjudicada por las radiaciones ultravioletas.

La *influencia del medio* desempeña un papel capital en las transformaciones que producen las diastasas. Algunas de ellas no actúan más que en medio neutro, otras en medio alcalino, otras, por fin, en medio ácido: lo que tendería a demostrar, en los dos últimos casos,

que hay ciertas categorías de enzimas sensibles a los iones OH, y otras, por el contrario, sensibles a los iones H.

Reacciones que permiten reconocer la presencia de una diastasa.—Cuando se pone una diastasa en presencia del agua oxigenada, ésta se descompone. Es importante operar con agua oxigenada *casi neutra;* la que se encuentra en el comercio casi siempre es fuertemente ácida. Para efectuar la reacción se emplea una solución alcohólica de resina de guayaco, *preparada en el momento mismo de usarla,* por trituración de resina de guayaco con alcohol; a 2 ó 3 cm^3 de este líquido se añaden algunas gotas de agua oxigenada, y luego, gota a gota, el líquido en que se busca la presencia de una diastasa. Si la coloración amarilla del principio es substituída por una coloración azul intensa, se puede deducir la presencia de un principio activo. El ácido acético no hace desaparecer esta coloración. Una infusión de diastasa calentada no da coloración azul.

Algunas características de las acciones diastásicas. —Hemos hecho notar (pág. 124) que la acción diastásica podía ser substituída por la de ciertas substancias químicas. Si la invertina convierte el azúcar de caña, no reductor, en azúcares reductores, y si la amilasa transforma el almidón en hidratos de carbono solubles, estas mismas transformaciones pueden efectuarse en contacto con ácidos minerales más o menos diluídos y calientes. Y estos ácidos se encuentran inalterados al terminar la reacción. Desempeñan el papel de *catalizador* (pág. 124); actúan en pesos incomparablemente menores que los de la materia cuyas metamorfosis provocan.

El mismo fenómeno ocurre con las enzimas: una parte en peso de amilasa puede, en algunos minutos, liquidar más de 2000 partes de engrudo de almidón. Una vez terminada esta liquidación, se necesita mucho mayor tiempo para llegar a la sacarificación total.

A pesar de esto, una cantidad muy pequeña de diastasa produce grandes cantidades de maltosa: éste es un hecho predominante en la historia de las diastasas. Además, la mayor parte de las diastasas permanecen *inalteradas* mientras se efectúan las diversas transfor-

maciones que ellas presiden. Todas estas reacciones son exotérmicas.

De todas maneras, y esto ocurre igualmente en el caso de las fermentaciones microbianas, la acción diastásica, cuyos comienzos son rápidos, se amortigua poco a poco a causa de la acumulación de los productos de la reacción. Si éstos son separados de uno u otro modo, el fenómeno recobra su marcha con la misma rapidez que al principio.

Las transformaciones producidas por las acciones diastásicas obedecen a la *ley de acción de las masas:* la velocidad de la reacción es directamente proporcional a la concentración de la substancia o de las substancias que sufren la transformación. Pero, para que la ley de acción de las masas se cumpla en el caso de los fenómenos diastásicos, como se cumple en las acciones catalíticas ordinarias, debe tenerse en cuenta la *viscosidad* del líquido, según las investigaciones de Achalme y Bresson (1911).

Reversibilidad de las acciones diastásicas.—En una reacción química *reversible* existe equilibrio cuando la velocidad de transformación en un sentido es igual a la velocidad de transformación en el sentido inverso.

Algunas diastasas pueden efectuar *condensaciones:* tal es el caso de la *maltasa,* enzima que provoca el desdoblamiento de la maltosa en glucosa. Pero, si se hace actuar la maltasa sobre una solución concentrada de glucosa, se produce, por condensación de la glucosa, una materia azucarada en proporción tanto mayor cuanto más glucosa haya. Esta materia azucarada ha sido por de pronto considerada como maltosa (Croft Hill, 1898).

Hanriot (1901) ha demostrado que la *lipasa* del suero sanguíneo, capaz de saponificar las grasas (véase más adelante), es también susceptible, en presencia de glicerina y de un exceso de ácido graso, de recombinar estas dos substancias y regenerar así el cuerpo graso primitivo.

He aquí, pues, ejemplos de condensación debidos a la acción de una diastasa. En la célula vegetal se efectúan una multitud de fenómenos de este género. Parece, según esto, que se pueden atribuir a la presencia de *diastasas condensantes* todas las acciones de condensación, tales como las que convierten la glucosa en maltosa y ésta en fécula.

Sin embargo, se ha puesto en duda, por diversas razones, el valor del experimento de Croft Hill: en realidad se formaría, no mal-

tosa, sino *isomaltosa,* que la maltosa no hidroliza (Emmerling, 1902).

De los fenómenos de reversibilidad mejor conocidos, citemos los siguientes. Según Pottevin (1906), el tejido pancreático, cuyo poder saponificante ha sido estudiado por Cl. Bernard, es, inversamente, un agente de eterificación muy activo.

Bourquelot y Bridel (1912) han demostrado que mediante la emulsina se obtienen alcoholglucósidos puros, cristalizados, e hidrolizables por la misma emulsina. Si se toman pesos de glucosa iguales respectivamente a los que entran en la composición del etilglucósido β ($C^6H^{11}O^6.C^2H^5$), por ejemplo, y se ponen glucosa y etilglucósido en presencia: 1.°, de una misma cantidad de alcohol de 85 por 100; 2.°, de una misma cantidad de alcohol de 60 por 100, y luego se añade a cada una de estas mezclas 0,2 gr. de emulsina, si la hipótesis de la reversibilidad es exacta, se deberá llegar al mismo límite, ya sea que se parta del glucósido, ya de la cantidad correspondiente de glucosa. Pues bien, al cabo de tiempos iguales, los dos líquidos manifiestan la misma rotación. Además, el límite común a las dos acciones hidrolizante y sintetizante varía con la concentración del alcohol: corresponde a una hidrolisis mayor y a una síntesis menor a medida que el alcohol es más diluído.

Una reacción sintetizante del mismo orden entre la galactosa y el alcohol etílico, ocurre bajo la acción del kefir (lactasa) (Bourquelot y Hérissey, 1912).

El metilglucósido β presenta, como el etilglucósido, y en las mismas condiciones, fenómenos reversibles análogos a los de este último (Bourquelot y Verdon, 1913). El estado de equilibrio es independiente de la cantidad de emulsina empleada (Bourquelot y Coirre, 1913).

Según Bourquelot, la misma enzima, según los medios, desdobla o sintetiza.

Relaciones entre la estructura de los cuerpos y la acción de las diastasas. — La estructura química del cuerpo sobre el cual actúa la diastasa tiene una importancia capital. Según Fischer, la acción o la inacción de una enzima depende a la vez de la *composición* de la substancia sobre la cual ejerce su actividad y de su *configuración*, es decir, de la posición de sus átomos en el espacio.

Tal enzima que desdoblará fácilmente un éter no tendrá acción alguna sobre su isómero estéreoquímico. Los dos cuerpos sobre los cuales actúa la enzima son absolutamente idénticos en cuanto a su composición y sus propiedades generales: sólo difieren por el modo como están dispuestos ciertos grupos. Según esto, una enzima y la substancia sobre la que obra deben tener ciertas relaciones de estructura, si no una estructura geométrica semejante. Se puede suponer, pues, con Effront, que una célula nutrida con fécula segregará una substancia activa que tiene la estructura estéreo química de la

fécula, mientras que la célula alimentada con azúcar de caña suministrará una diastasa que tendrá la constitución química del azúcar de caña.

Hay motivo para reservar la opinión respecto de las ideas de Fischer, porque este autor operó con mezclas de diastasas.

Clasificación de las diastasas. — Conviene, según la mayoría de los autores, clasificar las diastasas teniendo en cuenta el trabajo químico que hacen.

A. **Diastasas hidratantes o hidrolizantes.**—1.º INVERTINA O SUCRASA.—Esta diastasa hidroliza el azúcar de caña y transforma a éste en *azúcar invertido*, mezcla equimolecular de glucosa y levulosa. Berthelot fué el primero en aislarla precipitando mediante el alcohol el agua de levadura. Los vegetales no pueden asimilar directamente el azúcar de caña: primero deben transformarlo, como hacen los animales. El azúcar de caña, tan abundantemente almacenado en la raíz de la remolacha, experimenta una transformación de esta naturaleza para ser utilizado por la planta durante el segundo año de su vegetación. Entonces es cuando aparece la invertina: los productos de desdoblamiento del azúcar, la glucosa y la levulosa, son utilizados por la planta para la producción de las hojas y después del eje florido. La invertina está muy esparcida en las células de casi todos los órganos: raíces, tallos, hojas, yemas, pétalos.

El zumo de todas las uvas contiene invertina en cantidad suficiente para transformar toda la sacarosa que pueda hallarse en él, sin que tengan que intervenir los ácidos orgánicos (Martinand).

Muchas especies de levaduras que provocan la fermentación alcohólica del azúcar segregan invertina. Numerosas mucedíneas: *Mucor, Penicillium, Aspergillus*, forman igualmente esta diastasa. Una ligera acidez favorece la acción de ésta. La invertina actúa según la siguiente reacción:

$$\underset{\text{Sacarosa}}{C^{12}H^{22}O^{11}} + H^2O = \underset{\text{Glucosa}}{C^6H^{12}O^6} + \underset{\text{Levulosa}}{C^6H^{12}C^6}$$

2.º AMILASA O DIASTASA.—La amilasa, llamada durante

mucho tiempo *diastasa*, fué descubierta por Kirchoff (1814), quien la creyó idéntica al gluten. A Dubrunfaut, y después a Payen y a Persoz, se debe el estudio de este fermento soluble. Su acción consiste en hidratar la fécula y convertirla en dextrinas y maltosa. Se halla en las semillas de todos los cereales, donde es poco activa. Su actividad no se manifiesta de un modo notable más que durante el curso de la germinación.

La amilasa es muy común en las hojas y en las yemas. Los tubérculos de las patatas germinadas la contienen, así como gran número de semillas. Cuando la fécula se ha depositado en los granos de clorofila por efecto de la asimilación del carbono, no tarda en emigrar y, entre sus localizaciones, deben citarse la raíz, la semilla, el leño en las plantas vivaces. Su agente de disolución es la amilasa. De todas maneras, otras enzimas pueden también solubilizar la fécula.

Lo mismo que sucrasa, también existe amilasa en las mucedíneas.

Esta diastasa actúa con una velocidad muy desigual en las diferentes féculas; sacarifica unas muy rápidamente y otras con extremada lentitud.

Brown y Morris han demostrado que esta diastasa no era la única, y han distinguido, en la germinación de las semillas de los cereales, dos amilasas: una llamada *de secreción*, que actúa por corrosión en los granos de fécula; otra, llamada *de desalojamiento*, que obra por disolución directa.

Las semillas muertas por la acción de un anestésico (inmersión de los granos de trigo hinchados en éter) conservan sus propiedades diastásicas (Aspit y Gain, 1909).

La amilasa puede sobrevivir a la facultad germinativa de las semillas. En efecto, los granos de trigo de cincuenta años, incapaces de germinar, contienen todavía amilasa susceptible de convertir la fécula en azúcar (Brocq-Rousseu y Gain, 1909).

La acción de la amilasa, muy lenta sobre la fécula cruda, muy rápida sobre la fécula cocida, es favorecida por una ligera reacción ácida del medio. El engrudo de almidón gelatinoso, adicionado de amilasa, se disgrega y se disuelve. La masa, que al principio toma color azul con el agua de yodo, toma luego un color violáceo, después violeta rojizo, más tarde amarillo: finalmente el color desapa-

rece. En este momento, la fécula está transformada en una mezcla de maltosa y dextrina. Maquenne y Roux (1906) han observado que la infusión de malta aséptica aumenta de actividad con el tiempo. A esta propiedad especial estos autores dan el nombre de *autoexcitación de la malta*. Una malta convenientemente autoexcitada transforma *integralmente* la fécula cocida en maltosa. Bajo la sola influencia de las diastasas contenidas en la malta fresca, la sacarificación se detendría en el punto que las antiguas teorías le señalaban como límite. Se deben considerar, pues, todas las partes constituyentes de la fécula como *maltosanas,* es decir, productos enteramente transformables en maltosa.

Las propiedades de la amilasa son utilizadas en grande escala en la fabricación de la cerveza.

La acción de la amilasa está limitada por la presencia de los productos del desdoblamiento de la fécula, sobre todo por la maltosa.

La amilasa actúa sobre la fécula de la siguiente manera:

$$\underset{\text{Fécula}}{4\,C^6H^{10}O^5} + K^{20} = \underset{\text{Maltosa}}{C^{12}H^{22}O^{11}} + \underset{\text{Dextrina}}{2\,C^6H^{10}O^5}$$

Esta reacción en bruto no expresa ni la magnitud molecular de la fécula, ni la de la dextrina, que son desconocidas.

La amilasa de la malta es mucho más sensible a las radiaciones ultravioletas que la invertina de la levadura (Chauchard y Mlle. Mazoué, 1911).

3.° GLUCOSA O MALTASA.—Este fermento soluble actúa sobre la fécula, las dextrinas y la maltosa. Esta última, cuya fórmula es idéntica a la del azúcar de caña, se forma en la digestión de cualquier materia amilácea y, del mismo modo que el azúcar de caña, debe ser desdoblada antes de ser asimilada. Este desdoblamiento produce dos moléculas de glucosa. Todos los cereales, especialmente el maíz, contienen maltasa; ha sido señalada su presencia en la remolacha y en muchos mohos, lo mismo que en la levadura. Una ligera acidez favorece la acción de esta enzima. La diálisis ordinaria aumenta al principio el poder hidrolizante de la maltasa; este poder llega a un máximo y después disminuye ligeramente (Kopaczewski, 1913). Según Huerre (1909), la maltasa del alforfón desaparece rápidamente durante la germinación.

4.° INULASA.—La inulina, hidrato de carbono semejante a la fécula, substituye a ésta en algunos órganos de reserva. Es común en las plantas de la familia de las compuestas (tubérculos de dalia y de topinambur especialmente).

La inulasa, descubierta por Green, transforma la inulina en levulosa, del mismo modo que la amilasa convierte la fécula en glucosa. La inulasa existe en los tubérculos de topinambur en germinación, lo mismo que en los de dalia. Muchas mucedíneas la contienen, y, probablemente, muchos vegetales superiores. La acción de la inulasa sobre la inulina es un fenómeno tan complejo como la de la amilasa sobre la fécula. Parece que durante la hidratación se forman productos derivados análogos a las dextrinas. Sin embargo, según ciertos autores, esta transformación de la inulina en levulosa no determinaría la formación de ningún compuesto intermedio.

La inulasa es muy sensible a la acción de los ácidos: una proporción de 2 milésimas paraliza su acción.

5.º CITASA. — FERMENTOS CITOHIDROLÍTICOS. — Se da el nombre de *citasa* a unas enzimas de naturaleza muy heterogénea que actúan sobre ciertos hidratos de carbono fácilmente hidrolizables, tales como las hemicelulosas (véase página 174), las hexosanas y las pentosanas, que constituyen las reservas de muchas semillas. Una semilla en reposo no contiene citasa: se forma ésta durante la germinación, pero no ha podido ser aislada por los métodos usuales. Brown y Morris (1890) han señalado la presencia de la citasa en la malta desecada al aire; la cubierta celulósica de los granos de fécula sería atacada y disuelta por esta enzima. Los mohos también segregarían citasa; en efecto, ésta sería una de las causas de destrucción de los tejidos vegetales por ellos invadidos. Durante la germinación de las semillas de *datilero*, el albumen de células gruesas, rico en hemicelulosas, desaparece gradualmente.

La citasa transforma las hemicelulosas en materias azucaradas.

6.º PECTASA. — Con el nombre de *pectosa*, Frémy ha designado una substancia insoluble en el agua, el alcohol y el éter, que acompaña siempre a la celulosa en los vegetales. La pulpa de las frutas verdes y la de algunas raíces, zanahoria, remolacha, etc., son especialmente ricas en esta materia. Por la acción simultánea de los ácidos y del calor, la pectosa se con-

vierte en *pectina,* substancia soluble en el agua, cuya solución es viscosa. Esta misma transformación se efectúa durante la maduración de las frutas, gracias a la presencia de los ácidos málico y cítrico en ellas. El zumo de las frutas verdes, sometido a la ebullición, suministra pectina; el líquido adquiere la viscosidad que caracteriza al zumo de casi todas las frutas cocidas. La transformación, durante la maduración de una fruta verde, de la pectosa en pectina, es obra de un fermento soluble no aislado todavía.

Todos los tejidos que contienen pectina contienen también, según Frémy, un fermento soluble, la *pectasa:* ésta convierte la pectina, soluble, en un cuerpo insoluble, el *ácido péctico.*

Cuando se hace actuar la pectasa sobre la pectina disuelta, el líquido se gelatiniza. G. Bertrand y Mallèvre (1895) han demostrado que esta reacción no se realiza más que *en presencia de ciertas sales;* porque una solución de pectina pura, adicionada de pectasa bien exenta de sales cálcicas, nunca se gelatiniza. Las sales báricas y las estróncicas pueden reemplazar a las de calcio. Si a la mezcla de pectina y pectasa, exenta de calcio, se añade un poco de cloruro cálcico, la gelatinización no tarda en presentarse. Volveremos a tratar de estos hechos a propósito de los compuestos pécticos.

Se obtiene la pectasa reduciendo a pulpa la parte central de las zanahorias en plena vegetación. Se prensa esta pulpa, se filtra el líquido y se precipita la cal por el oxalato amónico. Basta luego filtrar y conservar el líquido filtrado en frascos bien tapados en lugar fresco.

Las hojas de las plantas de crecimiento rápido contienen igualmente mucha pectasa.

7.º Celulasa. — Muchas bacterias (bacterias denitrificantes, fermentos metánicos, etc.) segregan una *celulasa* que hidroliza la celulosa y la transforma en *celosa.* Esta, a su vez, se desdobla en glucosa por la reacción de una *celasa* (H. Pringsheim, 1912).

B. **Diastasas saponificantes.**—En realidad, las diastasas saponificantes podrían ser consideradas como formando una *subclase* de las diastasas hidratantes, porque tienen

el carácter esencial de fijar el agua en los cuerpos grasos.

Los cuerpos grasos, tan frecuentes en muchas semillas, son éteres de la glicerina. Su desdoblamiento en glicerina y ácidos grasos fué efectuado en 1823 por Chevreul; su síntesis, es decir, la reacción inversa a partir de la glicerina y de los ácidos grasos, fué conseguida por Berthelot (1854).

El fermento que determina la saponificación (hidrolisis o hidratación) de los cuerpos grasos está muy esparcido en los vegetales. Se deben a Pelouze (1855) nuestros primeros conocimientos respecto de este asunto; pero, este sabio no logró aislar el principio activo capaz de desdoblar las grasas.

Los fermentos saponificantes o *lipolíticos* existen en el reino animal. Hanriot (1896) descubrió en la sangre uno de estos fermentos (serolipasa), probablemente distinto de la lipasa del jugo pancreático de Cl. Bernard. Algunas mucedíneas segregan una lipasa.

Una de las primeras tentativas de extracción regular de este fermento, muy común en las semillas, es debida a Green (1890).

Este autor lo obtuvo de las semillas de ricino por maceración en una solución de sal común al 5 por 100. Luego se dializa el líquido, y la parte que queda en el dializador, mezclada con una emulsión de aceite de ricino, saponifica este aceite con bastante rapidez. Los ensayos de Green no fueron hechos en medios esterilizados y, según hace notar Nicloux, el solo hecho de medir la acidez del medio no basta para deducir que ha habido desdoblamiento.

La extracción de la substancia *activa* de la semilla de ricino ha sido objeto de cuidadosas investigaciones de parte de Nicloux (1904). En razón de las notables particularidades que presenta este principio activo, expondremos aquí algunos pormenores respecto del mismo.

Se desengrasan mediante el éter semillas de ricino cuyo poder saponificante se ha comprobado previamente (haciendo actuar una pequeña cantidad de la semilla sobre aceite en presencia de agua acidulada). La pasta así obtenida, puesta en suspensión en el aceite, posee, poco más o menos, el mismo poder saponificante que la semilla primitiva. Si se lixivia esta pasta con agua sola o con agua salada, se observa que el líquido filtrado, lo mismo que el residuo no

disuelto, están desprovistos de actividad. Es, pues, un hecho que la diastasa, si es que existe, goza de propiedades distintas de las conocidas hasta aquí, puesto que no se disuelve en el agua y hasta pierde sus propiedades en contacto con este líquido: no puede tratarse, por lo tanto, en este caso, de un fermento *soluble* ordinario.

Se tritura la semilla descortezada, se mezcla con aceite de ricino o de algodón (que es más flúido) y se filtra la mezcla, después de haberla hecho homogénea, a través de una tela. Encima de ésta quedan la mayor parte de los tegumentos, paredes celulares y granos de aleurona. Se centrifuga la parte del líquido que ha pasado por la tela y se forman en el tubo de la centrífuga dos capas distintas: la capa inferior, blanquecina, contiene todavía granos de aleurona y algunos restos de membranas celulares, mientras que la snperior, agrisada, apenas los contiene. Está formada ésta casi exclusivamente por el *citoplasma*, que es uno de los elementos celulares de la semilla, algunos núcleos muy pequeños y algunos granos de aleurona. Se quita fácilmente el aceite del citoplasma mediante un disolvente y se obtiene el citoplasma en estado de sequedad sometiéndolo nuevamente a la centrifugación.

Haciendo actuar *separadamente* una cantidad pesada de granos de aleurona secos y de citoplasma seco, en presencia de una pequeña cantidad de ácido acético, sobre un determinado peso de aceite a una temperatura constante, se observa el siguiente e importante hecho: la actividad de la semilla es debida a uno de los elementos celulares, el citoplasma, con exclusión de los demás elementos, especialmente de los granos de aleurona. Unicamente el citoplasma es capaz de saponificar el aceite.

Si se trata este citoplasma, preparado como se ha dicho antes, con un poco de agua, se observa que el líquido filtrado es *inactivo*, y que también lo es el residuo que queda en el filtro. Lo mismo ocurre cuando se emplea agua acidulada con ácido acético o agua salada. Se pone de manifiesto esta acción especial del agua mediante el siguiente experimento: se pesan cantidades iguales de citoplasma seco, aceite y ácido acético diluído (décimonormal) y, en dos pequeños almireces, se hacen dos mezclas, añadiendo las substancias por el siguiente orden: 1.°, citoplasma, aceite y agua acidulada; 2.°, citoplasma, agua acidulada, aceite. La primera mezcla se saponifica con regularidad; la segunda no presenta señales de saponificación. Se deduce de esto que la acción del agua hace perder *instantáneamente* su poder saponificante al citoplasma *cuando éste no está protegido por el aceite*. El agente saponificador no es, pues, un fermento soluble en el agua, análogo a los que hemos examinado antes. Nicloux llama a este nuevo agente *lipaseidina*. Aun cuando no sea un fermento soluble propiamente dicho, el estudio de la acción saponificante producida por el citoplasma enseña que, en lo que concierne a la temperatura, la acción de los productos de la reacción, la proporcionalidad entre la cantidad de citoplasma y la cantidad de aceite

saponificado, y la ley que expresa la velocidad de la saponificación, existe una completa analogía entre la acción del citoplasma y las acciones diastásicas en general.

Este fermento presenta, pues, todos los caracteres de los fermentos solubles, *excepto la solubilidad;* es un *fermento soluble insoluble* (Nicloux).

El citoplasma no sólo actúa sobre los aceites, a los cuales saponifica, sino que también puede invertir el azúcar e hidrolizar la fécula (Urbain y Saugon).

A los datos que preceden añadamos la siguiente observación:

Si se abandonan a sí mismas durante algunos días las semillas de ricino trituradas con agua, se observa, al cabo de mayor o menor tiempo, una intensa saponificación. Esta sólo se presenta en el momento en que la masa se ha vuelto suficientemente ácida. En esta masa, el ácido que predomina es el láctico, que se forma a causa de la presencia de una diastasa soluble en el agua, distinta, por consiguiente, de la diastasa lipolítica, que es insoluble.

Pequeñas cantidades de sulfato manganoso activan notablemente la acción del fermento (Hoyer, 1907; Falk y Hamlin, 1913).

C. **Fermentos solubles oxidantes.** — Hasta ahora hemos encontrado fermentos solubles que fijaban los elementos del agua, ya en los hidratos de carbono, ya en las grasas: estos fermentos eran *hidratantes* o *hidrolizantes*. Existen fermentos solubles *capaces de fijar oxígeno* en ciertos principios vegetales, especialmente los zumos de frutas. La causa de esta oxidación, en vez de ser atribuída, como se había hecho hasta ahora, ya sea a una simple oxidación de orden químico (Reinke), ya sea auna acción vital imposible de definir, fué atribuída por Yoshida (1883) a una diastasa especial, en un estudio sobre la oxidación del *látex del árbol de la laca de China*. Esta diastasa oxidante, o mejor, estas diastasas, están muy esparcidas en el mundo vegetal (fanerógamas y criptógamas), como también en ciertas células animales.

La verdadera naturaleza, lo mismo que las propiedades especiales de las oxidasas, fueron caracterizadas por primera vez por G. Bertrand.

A una *oxidasa* se debe la *casse* de los vinos: la materia colorante se oxida y se precipita: el líquido toma un color amarillo (enoxidasa). Esta diastasa ha sido estudiada por Gairaud, Martinand y Cazeneuve. También es debido a una oxidasa el pardeamiento del zumo de manzanas (Lindet).

Diferentes tipos de fermentos oxidantes.—Se distinguen tres tipos principales de fermentos oxidantes:

1.° Catalasas.—Hablando con propiedad, estas diastasas no son oxidasas. Tienen solamente la propiedad de descomponer el agua oxigenada en agua y oxígeno. Este gas se desprende en estado de oxígeno ordinario sin manifestar reacciones oxidantes especiales. No oxida ni da color azul a la tintura de guayaco; no oxida a determinados polifenoles. Las catalasas, que ejercen una *simple acción catalítica* sobre el agua oxigenada, existen en muchos tejidos animales y vegetales.

2.° Peroxidasas o peroxidiastasas. — Estas diastasas, que se hallan en muchos tejidos animales y vegetales, *descomponen el agua oxigenada con desprendimiento de oxígeno activo*, capaz de oxidar enérgicamente a ciertos cuerpos, llamados *aceptadores*, que existen en la solución, y cuya oxidación va acompañada de coloraciones características. Las peroxidasas no determinan, pues, la oxidación directa del aceptador por el oxígeno del aire, *sino una oxidación indirecta* a expensas del oxígeno del agua oxigenada: esta oxidación indirecta se pone de manifiesto, por ejemplo, mediante la coloración azul de la tintura de guayaco, por el color rojo que toma el guayacol, etc. A veces se llaman estas oxidaxas *anaeroxidasas* para indicar que el oxígeno que fijan estas diastasas no procede de la atmósfera.

3.° Oxidasas verdaderas.—Transportan *directamente el oxígeno del aire* a las substancias fácilmente oxidables: hidroquinona, pirogallol, guayacol, tintura de guayaco, etc.

Al lado de estas diastasas oxidantes se encuentran diastasas *desoxidantes* (desoxidasas, reductasas, hidrogenasas).

Las *oxidasas verdaderas*, en las que principalmente nos ocuparemos, son muy inestables; una temperatura de 60° anula su acción; los antisépticos la retardan. El alcohol apenas actúa sobre ellas, aun en la proporción del 50 por 100. Parece que no contienen nitrógeno. Una propiedad notable de las oxidasas consiste en la marcada coloración azul que producen en contacto con la *tintura de guayaco*, no adicionada de agua oxigenada: se forma entonces *ácido guayacónico* a expensas del oxígeno del aire. La cantidad de oxígeno absorbido por efecto de la acción de las oxidasas puede servir de medida de la intensidad de la oxidación.

Mientras que los fermentos solubles anteriormente estudiados poseen propiedades específicas y no ejercen su acción

más que sobre una determinada categoría de substancias, las oxidasas, y especialmente la *lacasa,* que vamos a estudiar luego, no parece que posean acción específica. En efecto, esta diastasa oxida lo mismo la hidroquinona que el pirogallol. De todas maneras, los fenoles sobre que actúa la lacasa deben tener cierta *configuración:* sus isómeros son poco o nada oxidables.

Vamos a exponer algunos pormenores relativos a la historia de la *lacasa,* tipo de las oxidasas verdaderas, especialmente bien estudiada por G. Bertrand (1894-1897).

Lacasa (llamada *fenolasa* por muchos autores).—El látex del árbol de la laca del Tonkín *(Rhus succedanea,* anacardiácea) sirve en China para recubrir los muebles de un barniz llamado *laca*. Este látex se presenta en forma de una crema espesa, de color moreno claro, casi inodora. En frascos llenos y bien tapados se conserva sin alterarse; pero, en contacto con el aire, se recubre de una película resistente, de color negro intenso, insoluble en todos los disolventes.

Para poner de manifiesto la intervención de una diastasa en esta coloración es preciso separar los elementos del látex. Para ello se mezcla éste con cuatro o cinco veces su peso de alcohol; este líquido insolubiliza la diastasa y disuelve el principio colorante de la laca. Se vierte sobre una tela y se lava con alcohol el precipitado voluminoso, de color gris, que queda encima de la misma. Se redisuelve este precipitado en agua fría y se vierte el líquido en un exceso de alcohol, con lo cual vuelve a formarse un precipitado, que se deseca en el vacío. Este precipitado contiene el fermento soluble, la lacasa. Por otra parte, el líquido alcohólico del que se ha separado la lacasa se evapora en el vacío, y el residuo se agita con agua y éter. El agua disuelve los azúcares y las sales minerales; el éter se apodera de una nueva substancia, el *lacol*. Este cuerpo es muy oxidable y se transforma rápidamente en una resina, principalmente en presencia de las bases, como lo haría un fenol poliatómico, por ejemplo el pirogallol. Por lo demás, el lacol se aproxima mucho por sus propiedades a algunos fenoles; utilizaremos más adelante esta observación. El manejo del lacol es molesto y hasta peligroso.

Las propiedades específicas oxidantes de la lacasa son ahora fáciles de poner de manifiesto. Si se precipita una solución alcohólica de lacol, por una parte por agua y por otra mediante una solución acuosa, preparada en frío, de lacasa, se observa que la emulsión preparada con el agua sola sigue inalterada, mientras que la que contiene lacasa pardea en seguida cuando se agita en contacto con el aire. La solución *hervida* de lacasa no produce ningún efecto. Estos experimentos, hechos en vasijas cerradas, en presencia de un volumen medido de oxígeno, determinan la absorción de una parte de este gas, más rápida y mayor en presencia de lacasa.

El lacol, según hemos dicho antes, se parece a ciertos fenoles poliatómicos. Por lo tanto, se pueden emplear éstos en vez del lacol, que es de manejo peligroso y, además, insoluble en el agua.

Por esto, en presencia de lacasa la *hidroquinona* se oxida formando quinona, y el *pirogallol* produciendo purpurogallina. En este último caso hay desprendimiento de gas carbónico, primer ejemplo de una acción diastásica acompañada de un desprendimiento gaseoso. El ácido gálico y el tanino también se oxidan:

$$\underset{\text{Pirogallol}}{4\ C^6H^6O^3} + O^9 = \underset{\text{Purpurogallina}}{C^{20}H^{16}O^9} + 4\ CO^2 + 4\ H^2O.$$

Existe lacasa en muchos vegetales; muchos hongos la contienen (Bourquelot y Bertrand). Se puede reconocer su presencia utilizando la acción que la lacasa ejerce sobre el lacol, o mejor sobre la hidroquinona o el pirogallol. Con este objeto es preferible emplear una reacción más sensible: la coloración azul que toma la resina de guayaco al oxidarse bajo la influencia del aire y de la lacasa. Una emulsión de un zumo vegetal, aunque sea muy pobre en lacasa, adicionada de algunas gotas de tintura de guayaco se colorea rápidamente en azul, después en verde y finalmente toma color amarillo, si la lacasa es abundante. Se obtiene fácilmente esta coloración azul poniendo una gota de tintura de guayaco encima de cortes frescos de tubérculos de dalia, patatas, raíz de remolacha, nabo, etc.

Sobre todo los órganos que están en vías de rápido desarrollo son ricos en lacasa; en muchos frutos maduros no existe este fermento.

Hasta aquí, únicamente los compuestos pertenecientes a la *serie aromática,* y entre ellos sólo los polifenoles, cuyos oxhidrilos fenólicos están situados en la posición *orto* (1-2) o *para* (1-4), son susceptibles de oxidarse por la acción de la lacasa. Los que presentan la posición *meta* (1-3) son poco oxidables:

```
      C.OH                 C OH                 C.OH
HC /     \ C.OH      HC /     \ CH        HC /     \ CH
HC \     / CH        HC \     / C.OH      HC \     / CH
       CH                   CH                  C.OH
```

Pirocatequina 1-2 | Resorcina 1-3 | Hidroquinona 1-4

La *floroglucina,* trifenol 1-3-5, no se oxida; el *pirogallol,* trifenol 1-2-3, se oxida:

```
        C.OH                  C.OH
  HC /       \ CH       HC /       \ C.OH
HO.C \       / C.OH     HC \       / C.OH
         CH                    CH
```

Floroglucina 1-3-5 | Pirogallol 1-2-3

Una parte, o hasta la totalidad de los oxhidrilos fenólicos, puede ser reemplazada por el radical amidógeno NH^2 sin que haya cambio alguno.

Se observa entonces una curiosa particularidad, esto es, que existe una relación *entre la oxidación y el poder revelador de la imagen fotográfica.* Así, el paramidofenol, buen revelador, se oxida rápidamente en contacto con el aire y la lacasa: el metamidofenol, no revelador, se oxida poco en estas condiciones.

De recientes experimentos resulta que gran número de ácidos paralizan la acción de la lacasa, aun cuando sólo existan en cantidad casi infinitesimal. Así es que el ácido sulfú-

rico actúa aún muy marcadamente en la proporción de una cienmillonésima sobre una solución de lacasa del árbol de la laca a la diezmilésima (G. Bertrand).

Tirosinasa. — Otro fermento oxidante, la *tirosinasa,* diferente de la lacasa, se encuentra en muchos vegetales. El zumo de las raíces de remolacha, de dalia y de patatas toma color rojo y después negro en contacto con el aire. Lo mismo ocurre con el zumo de algunos hongos, según Bourquelot. El salvado de trigo contiene también una tirosinasa, muy resistente a la acción del calor (G. Bertrand y Muttermilch). Tal coloración es debida a la oxidación de la tirosina por la acción de un fermento soluble (G. Bertrand). Esta oxidación no puede atribuirse a la lacasa, porque la tirosina resiste completamente a la acción del oxígeno gaseoso, aun en presencia de mucha lacasa.

Por otra parte, la tirosina o *ácido paroxifenilaminopropiónico,* no contiene más que un solo oxhidrilo fenólico: $OH.C^6H^4.CH^2.CH(NH^2)CO^2H$.

Ciertos hongos *(Russulas)* contienen un jugo muy rico en tirosinasa.

He aquí cómo se establece la individualidad de este nuevo fermento. Si se vierte un poco de maceración acuosa de *Russula,* preparada en frío, en una solución de tirosina, la mezcla toma color rojo y después negro: finalmente se forma un precipitado negro, al mismo tiempo que hay absorción de oxígeno. Una maceración hervida de *Russula* no produce efecto alguno. La lacasa sola no actúa sobre la tirosina; lo mismo ocurre cuando está adicionada de zumo hervido de *Russula* (G. Bertrand).

Cuando se prepara, ya sea por procedimientos sintéticos, ya sea por destrucción sistemática, toda la serie de los productos de simplificación bien definidos de la tirosina, y cuando se hace actuar sobre éstos la tirosinasa extraída del salvado de trigo, se observa que sólo los cuerpos oxidables de esta serie contienen un *oxhidrilo fenólico:* en este punto de la molécula es donde probablemente actúa la oxidación diastásica. Así, «lejos de estar limitada a la tirosina, la acción oxidante de la tirosinasa se extiende, como la de la lacasa, o como la

acción hidrolizante de la maltasa, de la emulsina y de la lipasa, a todo un grupo de compuestos definidos» (G. Bertrand, 1907).

La tirosinasa es activa respecto de los derivados del benceno homólogos del fenol que tienen, como la tirosina, además de una cadena lateral, un oxhidrilo OH unido directamente al núcleo bencénico y especialmente en posición *para* (paracresol, por ejemplo) [Chodat, 1907]. Las oxidasas, parecidas o idénticas a la tirosinasa, son susceptibles de producir algunas oxidaciones notables. Así es que el zumo de la *Russula delica* convierte la morfina en *oximorfina* (seudomorfina) [Bougault, 1902]. La vainillina $C^6H^3(OH)(OCH^3)COH$ es transformada en *dehidrodivainillina* por el zumo oxidante de diversos hongos; la goma arábiga produce la misma oxidación (Lerat, 1903).

Existen muchas variedades de tirosinasas cuya temperatura mortal es muy diferente (de 60 a 95°). Las tirosinasas de origen micológico son las más delicadas; las más estables corresponden a los vegetales superiores (G. Bertrand y Rosenblatt, 1910).

Intervención del manganeso en los fenómenos diastásicos.—Las cenizas de la lacasa contienen una elevada proporción de manganeso (G. Bertrand).

Se puede apreciar la cantidad de este metal combinando el empleo del colorímetro con la conocida reacción, debida a Hoppe-Seyler, que consiste en transformar el manganeso en ácido permangánico por oxidación con una mezcla de bióxido de plomo y ácido nítrico. Si, por este procedimiento, se comparan, desde el punto de vista de su actividad, algunas muestras de lacasa, se observa que la *actividad oxidante es proporcional a la riqueza en manganeso*.

Renunciando a eliminar el manganeso de las diferentes muestras de lacasa, por la gran dificultad de la operación, G. Bertrand extrae de diversas plantas diferentes especies de lacasa y prepara así algunos productos, pobres en manganeso y, por consiguiente, poco activos. Si se añade a éstos una mínima cantidad de una sal manganosa, se aumenta su actividad. La alfalfa se encuentra en este caso; es poco rica en manganeso, y la lacasa que contiene no goza de alguna actividad más que después de la adición de una sal manganosa. Las sales de hierro no poseen ninguna propiedad que las acerque, en este concepto, a las sales manganosas.

Dado que la pectasa no transforma la pectina más que en presencia de las sales cálcicas, y que la lacasa no oxida los polifenoles más que en presencia de las sales manganosas, conviene desde ahora, en el estudio de los fermentos solubles, tener en cuenta no sólo la substancia orgánica muy alterable a que se refiere actualmente toda idea de fermento soluble, sino también las substancias que G. Bertrand llama *cofermentos,* ya minerales, ya orgánicas, y cuya asociación con la primera constituye el sistema *verdaderamente activo.*

Todas las sales manganosas poseen la propiedad de fijar el oxígeno libre en la hidroquinona, el pirogallol, el paramidofenol y la resina de guayaco. La sal manganosa es una especie de *agente catalítico* destinado a transportar el oxígeno del aire a la materia orgánica. La cantidad de oxígeno fijado varía mucho con la *naturaleza* del ácido de la sal manganosa: las sales de ácidos orgánicos son las que determinan la mayor absorción. Se puede explicar así la marcha de la oxidación. Las sales manganosas se hidrolizan parcialmente en solución acuosa:

$$R''Mn + H^2O = R''H^2 + MnO \quad (R = \text{radical ácido}).$$

El óxido manganoso MnO se oxida espontáneamente en contacto con el aire. Durante esta oxidación, la molécula libre de oxígeno O^2 se divide en 2 átomos más activos; uno de ellos, actuando sobre el MnO, forma:

$$MnO + O^2 = MnO^2 + O\,;$$

el otro átomo se fijará indiferentemente en una molécula de óxido manganoso o en un cuerpo oxidable, tal como la hidroquinona o el pirogallol, substancias que resistirían a la oxidación en presencia del oxígeno molecular O^2.

La experiencia demuestra, efectivamente, que, si se pone óxido manganoso en suspensión en una solución de hidroquinona, se obtienen a la vez bióxido de manganeso MnO^2 y *quinona,* producto de oxidación de la hidroquinona. Esta reacción es la que se efectúa, por de pronto, cuando se añade una sal manganosa a una solución de hidroquinona; se encuentran entonces en presencia: ácido libre, bióxido de manganeso y un exceso del cuerpo oxidable. El ácido reacciona con el bióxido:

$$R''H^2 + MnO^2 = R''Mn + H^2O + O\,,$$

y el átomo de oxígeno se fija en una nueva cantidad de hidroquinona, mientras que se regenera la sal primitiva.

Según esto, un peso *limitado* de sal manganosa puede oxidar una cantidad *ilimitada* de un cuerpo oxidable, tal como la hidroquinona.

La conclusión de lo que precede puede formularse así: las oxidasas son combinaciones especiales del manganeso, el radical ácido probablemente es de naturaleza proteica y variable según el fermento considerado; tendría justamente la afinidad necesaria para mantener el metal en disolución. El elemento activo de la oxidasa sería el manganeso.

Notemos, sin embargo, que la propiedad de fijar el oxígeno libre en la hidroquinona no corresponde exclusivamente al manganeso. El *acetato de cerio* tiene, en este concepto, una actividad igual a la del acetato manganoso (Job). Y el cerio no es un metal tan raro como pudiera creerse; ha sido encontrado en muchos suelos.

Naturaleza de las oxidasas.—La naturaleza albuminoide de la lacasa es, sin embargo, muy problemática; en efecto, dadas las propiedades adsorbentes de los coloides, las sales de manganeso, primitivamente independientes en el látex del árbol de la laca, son ciertamente arrastradas en la precipitación alcohólica por los coloides que existen en el látex (gomas, albuminoides). Por otra parte, bastan proporciones pequeñísimas de álcali para acelerar la oxidación de la hidroquinona: existe, pues, un complejo químico entre el manganeso y los iones OH (Donny-Hénault, 1908-1909).

Euler y Bolin (1908) atribuyen la actividad de la lacasa a las sales orgánicas que ésta contiene (citratos, tartratos), es decir, en general, a sales *capaces de engendrar aniones complejos*. Estas sales se comportan, respecto de las sales manganosas, como iones OH, porque pueden formarlos por hidrolisis. Los citratos actúan sobre todo por su alcalinidad, a lo menos en la oxidación de la hidroquinona. Este efecto activante de los citratos, unido a su alcalinidad, retrograda con ella y luego desaparece al acercarse a la neutralidad. La sal de Seignette, los succinatos, los fumaratos, los lactatos y los acetatos alcalinos activan la oxidación de la hidroquinona en medio neutro, en presencia del manganeso, como lo haría la lacasa.

Según los autores antes citados, la lacasa de la alfalfa está formada por una mezcla de sales cálcicas de diversos oxiácidos (cítrico, málico, etc.). Una mezcla artificial de

estas sales posee, en presencia de un poco de acetato manganoso, todas las propiedades oxidantes de la lacasa de la alfalfa respecto de la hidroquinona.

Oxidasas artificiales. — En medio débilmente alcalino, el ferrocianuro de hierro coloide funciona como una oxidasa respecto de la hidroquinona. Si a una solución saturada de hidroquinona se añaden $\frac{4}{100000}$ de amoníaco y $\frac{1}{100000}$ de hierro en forma de ferrocianuro, se obtienen, al cabo de doce a quince minutos, abundantes cristales de *quinhidrona* (combinación de la quinona con la hidroquinona, que forma agujas verdes). Este fenómeno, por su rapidez y la desproporción entre la causa y el efecto, debe asemejarse a las acciones diastásicas más enérgicas. El álcali favorece la oxidación del fenol y, por consiguiente, su ataque por el ferrocianuro de hierro al actuar como oxidasa.

El álcali puede ser reemplazado por el fosfato bisódico. Es probable que las sales de manganeso, en los experimentos de G. Bertrand, deben en parte su actividad a su reacción alcalina. En efecto, el sulfato de manganeso neutro es casi inactivo; se vuelve activo por adición de indicios de piridina, incapaz de precipitar el manganeso (Wolff, 1908).

Las sales de manganeso facilitan la fijación del oxígeno por los fenoles en razón directa de la alcalinidad que estas sales comunican a la solución al hidrolizarse: cuanto más iones OH engendren estas sales, más activas serán. Pero, las sales de manganeso ejercen, además, *respecto de la hidroquinona sola,* una acción catalítica análoga a la del hierro, consistente a veces en suministrar un producto de oxidación determinado y en activar la reacción acelerándola.

En lo que concierne al papel del hierro, se puede decir que corresponde a este metal la función catalítica oxidásica; es el *catalizador por excelencia,* pudiendo reemplazar a la oxidasa respecto de todos los fenómenos y produciendo los mismos efectos que esta enzima por un mecanismo análogo, si no idéntico. El ferrocianuro de hierro, incapaz de engendrar iones OH, no introduce en la reacción ningún factor de orden químico; su acción es de orden puramente catalítico. En cuanto al manganeso, este metal puede tener una doble acción: la primera es una acción favorecedora debida a la alcalinidad accidental o natural de sus sales; la segunda es una acción catalítica análoga a la del ferrocianuro de hierro, menos intensa y menos general, debida, según parece, al mismo manganeso e independiente de la reacción del medio (Wolff y de Stœcklin, 1909).

Lo específico de estas acciones, aunque subordinado a la naturaleza del catalizador, no depende sólo de éste, sino también de la *naturaleza* de las sales generadoras de iones OH que preparan la oxidación. Los fenómenos oxidásicos naturales y artificiales

actualmente conocidos están regidos por un mecanismo análogo; pero, las enzimas son, en general, más poderosas, más delicadas y más sensibles a la acción de los ácidos, los álcalis, las sales, y a la influencia de la temperatura, que los catalizadores artificiales.

Peroxidasas o peroxidiastasas. — Son, como ya hemos dicho antes, enzimas capaces de descomponer el agua oxigenada, y de fijar, en ciertos cuerpos oxidables, el oxígeno activo desprendido. Estas enzimas están muy esparcidas en el reino vegetal; según Bach y Chodat, su papel estaría relacionado con la presencia de peróxidos en la célula vegetal.

Sin embargo, Wolff (1913) hace notar que las peroxidiastasas pueden funcionar en ausencia de peróxidos. La peroxidiastasa extraída de los brotes jóvenes de cebada desarrollados en la obscuridad, acelera notablemente las oxidaciones provocadas por pequeñas dosis de álcalis o de sales alcalinas, *sin el concurso del agua oxigenada,* como es fácil observar con la orcina y aun con la resorcina. Por otra parte, la acidez de los zumos vegetales basta para desalojar el ácido nitroso de los nitritos: puesto en libertad, este ácido puede originar fenómenos de oxidación análogos a los que se observan con el sistema peroxidasa, agua oxigenada. Habiendo demostrado Mazé (1912) que los vegetales contienen normalmente nitritos, resulta de ello que estos últimos son capaces de desempeñar un papel importante en los fenómenos de oxidación observables en las plantas. Así, Wolff relaciona la acción de la peroxidasa con la de los nitritos.

Ciertos compuestos coloides de hierro producen efectos idénticos a los de las peroxidasas naturales. Los ferrocianuros ferroso y férrico hacen aparecer, en presencia de indicios de agua oxigenada, y en la proporción de 10 miligramos por litro, cristales de quinhidrona en una solución saturada de hidroquinona. Este fenómeno se produce en el espacio de algunos minutos. Estas enzimas artificiales, cuya substancia activa es el hierro, se comportan en sus funciones esenciales como una enzima natural (la peroxidasa del rábano silvestre, por ejemplo, estudiada por Bach y Chodat) (Wolff, 1908, 1910).

Oxidasas sin manganeso ni hierro.—Ciertos experimentos de Bach (1910, 1913), que requieren nueva confirmación, tenderían a poner en segundo término el papel de los cofermentos minerales en los fenómenos oxidásicos. Este autor, tratando el zumo de algunos hongos *(Lactarius vellereus, Russula delica)* por el sulfato magnésico al 5 por 100, y sometiendo el líquido a una precipitación fraccionada por el alcohol, ha obtenido una oxidasa muy activa que no contiene hierro ni manganeso.

Ciertos metales coloides poseen propiedades diastásicas.— La esponja de platino y las soluciones coloidales de platino

presentan muchas analogías, desde el punto de vista de las propiedades oxidantes, con las oxidasas de que se acaba de tratar. El platino coloide, en efecto, acelera la oxidación del pirogallol, del mismo modo que la lacasa. La descoloración del añil por el agua oxigenada es acelerada, tanto por el contacto con la sangre y por el de algunas diastasas, como por el platino coloide y la esponja de platino (Schönbein). Los venenos de las diastasas y de la sangre lo son también respecto del platino coloide: ácido cianhídrico al $\frac{1}{40000000}$, hidrógenos sulfurado y arseniado, óxido de carbono.

D. **Fermentos que desdoblan la molécula.** — La *diastasa alcohólica, alcoholasa* o *zimasa* (1), descubierta por Buchner en 1897, existe en las células de levadura, de donde puede extraerse mediante una presión muy enérgica. El zumo que escurre posee la propiedad, *en ausencia de toda célula*, de descomponer la sacarosa, la glucosa, la levulosa y la maltosa en gas carbónico y alcohol. Las propiedades activas del zumo persisten después de haber pasado a través de una bujía de porcelana, como el filtro Chamberland. De todos modos el poder *fermento* queda debilitado después de este paso. Se puede desecar entre 30 y 35° el extracto de levadura: el producto blanco, duro, que resulta, es capaz de conservarse durante muchos meses; puesto en contacto con el agua, recobra sus propiedades fermentativas.

Las células de levadura, como el extracto mismo, desdoblan la glucosa, por ejemplo, según la siguiente ecuación aproximada:

$$C^6H^{12}O^6 = 2\,CO^2 + 2\,C^2H^6O.$$

El extracto de levadura goza de la notable propiedad de desdoblar los azúcares en presencia de proporciones de antisépticos tales que anularían la actividad de las células de la levadura. La actividad del zumo de ésta disminuye con bastante rapidez.

Probablemente la zimasa está muy esparcida en el reino

(1) Véase la obra *Die Zymasegärung. Untersuchungen über den Inhalt den Hefezellen und die biologische Seite des Gärungsproblems* de E. Buchner, H. Buchner y M. Hahn (Munich y Berlín, 1903), y también la *Fermentation alcoolique* de A. Harden (París, 1913). — C. B.

vegetal: evidentemente se debe a su acción la transformación, en ciertos frutos, del azúcar en alcohol y gas carbónico, cuando estos frutos están en una atmósfera de gas carbónico o de nitrógeno *(fermentación intracelular)*.

La fermentación alcohólica comprende dos fases, y la formación intermediaria de ácido láctico parece muy verosímil:

$$C^6H^{12}O^6 = 2\,\underset{\text{Acido láctico}}{C^3H^6O^3}, \qquad C^3H^6O^3 = CO^2 + C^2H^6O.$$

Pero, la levadura viva no ejerce acción sobre el ácido láctico, cualquiera que sea la reacción del medio. Buchner admite que el término intermediario es la *dioxiacetona* $CH^2(OH).CO.CH^2(OH)$, que fermenta bien en solución al 2 por 100 con zumo concentrado al que se añade zumo hervido: se forman entonces gas carbónico y alcohol. La *coenzima* de la zimasa representa una *combinación orgánica fosforada* del tipo de los éteres-sales, fácil de saponificar (véase Buchner, *Leçon professée devant la Société chimique de France*, 1910).

Relativamente a la existencia de la coenzima fosforada, Harden y Young (1905) habían observado que la adición al zumo de levadura de un fosfato soluble aceleraba notablemente la fermentación de la glucosa. Al fin del período de aceleración, el ácido fosfórico no da sus reacciones ordinarias, porque habría entrado en combinación orgánica con el azúcar. Lebedeff (1908) ha comprobado que la descomposición del azúcar y el desprendimiento del gas carbónico son dos procesos diferentes; este autor ha podido aislar, como producto intermedio, el éter fosfórico en cuestión. De manera que las diversas fases de la fermentación alcohólica podrían formularse así:

$$\underset{\text{Glucosa}}{C^6H^{12}O^6} = 2\,\underset{\text{Dioxiacetona}}{C^3H^6O^3}.$$

$$2\,C^3H^6O^3 + 2\,\underset{\text{Coenzima}}{RHPO^4} = 2\,\underset{\text{Éter fosforado}}{C^3H^5O^2RPO^4} + 2\,H^2O.$$

$$2\,C^3H^5O^2RPO^4 = C^6H^{10}O^4\,(RPO^4)^2.$$

$$C^6H^{10}O^4\,(RPO^4)^2 + 2\,H^2O = 2\,\underset{\text{Alcohol}}{C^2H^6O} + 2\,CO^2 + 2\,RHPO^4.$$

En realidad, según el citado autor (1911), la dioxiacetona fermenta, hasta la concentración de 5 por 100, tan bien como la sacarosa. Cualquiera que sea el azúcar fermentescible, se forma el mismo éter fosforado al principio de la fermentación.

Lebedeff prepara un líquido muy activo haciendo macerar la levadura desecada (entre 25 y 30°) durante dos horas con 3 volúmenes de agua, y llega a las siguientes conclusiones:

La zimasa del líquido de maceración es una diastasa típica; la cantidad de azúcar fermentado es aproximadamente proporcional a la cantidad de la coenzima. La enorme actividad del zumo extraído por su método es debida a la riqueza de este líquido en coenzima. Se puede, pues, creer que la actividad de la levadura en sí, muy superior siempre a la del zumo, no depende de su riqueza en zimasa, sino que esta actividad es debida a que, a medida que la coenzima en forma orgánica es destruída durante la fermentación, el poder sintético de la célula produce nuevas cantidades de la misma.

Según Harden y Young (1909), la manosa, puesta en presencia del zumo de levadura, se comporta como la glucosa, tanto si el líquido ha sido o no adicionado de fosfatos. La levulosa da los mismos resultados que los dos azúcares anteriores, pero con la diferencia de que la concentración en fosfatos más favorable debe ser más elevada.

E. **Fermentos que desdoblan los glucósidos.**—Se tratará de estos fermentos a propósito del estudio de los glucósidos (véase más adelante).

F. **Fermentos solubles que transforman las materias albuminoides.**—Hablaremos de ellos después de haber estudiado la absorción y la asimilación del nitrógeno por la planta. Estas dos últimas categorías de diastasas pueden entrar en la clase de las diastasas hidratantes.

III

ESTUDIO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO

El aldehido metílico CH^2O, cuya polimerización hemos admitido en los fenómenos de síntesis clorofiliana, suministra materias azucaradas o hidratos de carbono del orden de las *hexosas*, es decir, de cuerpos que contienen 6 átomos de carbono o un múltiplo de 6. Todos los vegetales contienen igualmente hidratos de carbono con 5 átomos de este elemento: se da el nombre de *pentosanas* a estas substancias y el de *pentosas* a las materias azucaradas que de ellas se derivan por hidratación.

Pero, los hidratos de carbono en C^5 y en C^6, que representan grados de polimerización ya bastante avanzada del aldehido metílico, están evidentemente precedidos en su formación por términos más sencillos. Entre éstos, conviene señalar una substancia, la *glicerina* $C^3H^8O^3$, que es dos veces alcohol primario y una vez alcohol secundario $CH^2(OH).CH(OH).CH^2(OH)$, cuya importancia fisiológica es capital, porque representa el núcleo alcohólico fundamental de todos los cuerpos grasos encontrados en el vegetal. La glicerina no existe en estado de libertad en ninguno de los tejidos de la planta: a lo menos no se ha encontrado todavía. A propósito de la germinación veremos que, cuando las grasas se saponifican, la glicerina desaparece muy rápidamente, ya sea por combustión total, ya sea, más verosímilmente, por transformación en hidratos de carbono por pérdida de 2 átomos de hidrógeno. Si se admite que en este último caso se forma *aldehido glicérico* $C^3H^8O^3 - H^2 = C^3H^6O^3$, es posible ver en este aldehido el primer término de la producción de los hidratos de carbono en C^6. Los derivados de la glicerina han permitido a E. Fischer reconstruir por completo los numerosos isómeros de la glucosa y la glucosa misma.

Diremos solamente algunas palabras sobre las substancias en C^4 que se encuentran en los vegetales. La *eritrita* $C^4H^{10}O^4$ (dos veces alcohol primario y dos veces alcohol secundario) se halla en muchas especies de líquenes *(Roccella tinctoria, R. Montagnei)*, en estado de éter diorsélico o *eritrina*. La eritrita que se obtiene de este éter por saponificación es una substancia de sabor azucarado, bien cristalizada, inactiva a la luz polarizada.

Pentosanas.—Pentosas.—Se dividen las pentosanas en *arabanas* y *xilanas*, según la naturaleza de los derivados que se forman cuando se hidrolizan estas dos materias. Hace mucho tiempo que se conoce un azúcar, extraído de diferentes gomas, y especialmente de la goma arábiga, la *arabinosa*. A este cuerpo se le había atribuído primero la fórmula $C^6H^{12}O^6$, idéntica a la de la glucosa. Pero, por el estudio de sus productos de desdoblamiento, Kiliani ha demostrado que

la arabinosa tenía la fórmula $C^5H^{10}O^5$, que después ha sido comprobada por crioscopia. Su composición centesimal es la misma que la de la glucosa. La arabinosa se forma evidentemente por hidratación de una substancia madre contenida en la goma primitiva, la *arabana,* cuya fórmula probable es $(C^5H^8O^4)^n$, del mismo modo que la glucosa deriva por hidrolisis de la fécula $(C^6H^{10}O^5)^n$. Por otra parte, las gomas contienen, según veremos más adelante, no sólo pentosanas, sino hexosanas más o menos condensadas, porque siempre se obtienen, con la hidrolisis de las gomas, al lado de la arabinosa, azúcares tales como la glucosa y la galactosa.

En todos los tejidos lignificados de los vegetales existe una substancia soluble en los álcalis diluídos, precipitable de su solución alcalina por una mezcla de alcohol y ácido clorhídrico o acético en forma de copos. Recogidos éstos en un filtro y calentados con ácido sulfúrico diluído, dan un azúcar cristalizable, la *xilosa,* isómero de la arabinosa. La substancia madre de la xilosa se denomina *xilana* o *goma de madera.* Algunas maderas producen mucha (16 por 100 la madera de chopo); la paja contiene de 11 a 15 por 100.

Ni la xilana, ni la arabana han sido obtenidas en estado de pureza: su hidrolisis produce siempre, junto con azúcares en C^5, azúcares en C^6. La goma de madera parece encontrarse en los vegetales a lo menos en dos formas: si existen xilanas que se disuelven fácilmente en los ácidos diluídos, hay otras que, por el contrario, resisten a estos agentes y hasta al reactivo de Schulze (mezcla en frío de clorato de potasa y ácido nítrico).

La goma de madera, casi insoluble en el agua fría, es bastante soluble en el agua caliente.

Los vegetales contienen, pues, substancias que, por hidratación, producen azúcares pentósicos. Estas substancias están fuertemente condensadas; se acercan algo a la celulosa, de la que hablaremos más adelante; pero, en general, resisten mucho menos que ésta a la acción de los ácidos diluídos. A estas especies de celulosas, menos resistentes, que por hidrolisis forman mezclas de azúcares pentósicos y hexósicos, Schulze ha propuesto llamarlas *hemicelulosas* (véase más adelante).

La arabinosa y la xilosa no existen en estado libre en el vegetal; estos azúcares, incapaces de fermentar, son ambos dextrógiros.

Origen de las pentosanas.—Debe buscarse probablemente en la oxidación de la fécula o de la celulosa. Uno de los átomos de carbono se separaría de la molécula de las hexosas por la acción del oxígeno del aire y de fermentos específicos (Tollens):

$$C^6H^{12}O^6 + O^2 = C^5H^{10}O^5 + CO^2 + H^2O.$$

De Chalmot ha demostrado que las hojas contienen tanta mayor cantidad de pentosanas cuanto mayor sea su edad. La proporción de pentosanas de la cebada aumenta a medida que avanza la vegetación. Cuando se suprime la asimilación clorofiliana poniendo la planta en la obscuridad, aumentan las pentosanas. Éstas no parecen, pues, proceder, como las hexosas, de la función de asimilación. Además, está probado que al terminar el día la proporción de las pentosanas no es siempre mayor que por la mañana.

En resumen, la formación de las pentosanas se extiende a todo el período de la vegetación, y su aumento parece efectuarse paralelamente al de la celulosa. Según algunos autores, cuando se mantiene largo tiempo la planta en la obscuridad, las pentosanas se comportarían como una materia de reserva y serían consumidas como las hexosas.

En el organismo animal, una parte de las pentosanas puede ser digerida, otra es expulsada con los excrementos. La formación del ácido hipúrico parece estar en relación con la presencia de pentosanas fácilmente digestibles. Existen microorganismos que atacan a las pentosanas; éstos se encuentran siempre en la materia húmica de los suelos, como también en la turba.

Caracteres de los cuerpos pentósicos.—Todas las substancias pentósicas poseen la propiedad de dar, cuando se calientan con un ácido mineral diluído, un cuerpo de naturaleza aldehídica, el *furfurol* ($C^5H^4O^2$). Hasta se puede determinar aproximadamente de esta manera la cantidad de pentosas contenidas en un peso determi-

nado de un tejido vegetal cualquiera. Se recoge el furfurol que destila y se le trata por una solución valorada de fenilhidracina. El furfurol se reconoce por su olor característico y por la coloración rojocarmín que comunica a una solución de acetato de anilina.

Junto con las pentosanas existen en los vegetales ciertas substancias, como las *oxicelulosas* y las *materias pécticas,* que contienen grupos *furfurógenos,* capaces de formar furfurol en las condiciones en que las pentosanas lo producen. Casi todas las celulosas contenidas en las fibras en bruto contienen substancias furfurógenas.

Las pentosanas y las pentosas, calentadas con ácido clorhídrico concentrado, forman una abundante materia negra, pero no dan ácido levúlico, ni ácido fórmico, como las hexosas.

Según G. Bertrand, se pueden diferenciar las pentosas de las hexosas de la siguiente manera: Si se calienta suavemente con ácido clorhídrico concentrado, y un indicio de *orcina,* una pequeña cantidad de azúcar o de un hidrato de carbono en C^6, el líquido toma color rojo anaranjado. En cambio toma color azul violeta si se trata de un hidrato de carbono en C^5.

La amilasa no actúa sobre las pentosanas. Por lo tanto, si se quiere sacarificar fécula que contenga pentosanas, se puede hacer actuar primero la amilasa, que solubilizará la fécula y no ejercerá acción alguna sobre las pentosanas.

Heptitas.—Junto con pentosanas se encuentran en algunos vegetales materias azucaradas que contienen 7 átomos de carbono. Tal es el caso de la *perseíta,* que existe en las semillas del aguacate *(Laurus Persea).* Este azúcar es una *manoheptita* dextrógira. Antes se confundió esta materia con un alcohol, isómero de la manita $C^6H^{14}O^6$. Maquenne demostró, en 1888, que la perseíta tenía por fórmula $C^7H^{16}O^7$; se deriva de ella, por reducción, un hidrocarbono C^7H^{12}.

La *volemita,* extraída del *Lactarius volemus,* lo mismo que de diversos vegetales de la familia de las primuláceas, es un isómero de la perseíta.

Hexosas.—Se pueden dividir las hexosas en dos grupos: 1.°, el de las *glucosas,* cuerpos reductores, dotados de poder rotatorio, que corresponden a la fórmula empírica $C^6H^{12}O^6$. A este grupo referiremos algunos alcoholes, de donde derivan los cuerpos precedentes, que representan los aldehidos o las quetonas de estos alcoholes: *manita, dulcita* y *sorbita;* su

fórmula es $C^6H^{14}O^6$; 2.º, el grupo de las *poliglucosas;* éste comprende dos subdivisiones:

a. Cuerpos que derivan de la soldadura de 2, 3 ó 4 moléculas $C^6H^{12}O^6$ con eliminación de 1, 2 ó 3 moléculas de agua, y que se denominan *hexobiosas, hexotriosas* y *hexotetrosas.* Las hexobiosas $C^{12}H^{22}O^{11}$ que se encuentran ya formadas en los vegetales son la *sacarosa*, la *maltosa*, la *lactosa*, la *trehalosa;* las hexotriosas $C^{18}H^{32}O^{16}$ son la *rafinosa*, la *meletitosa*, la *maninotriosa*, la *gencianosa;* la única hexotetrosa $C^{24}H^{42}O^{21}$ ahora conocida es la *estaquiosa* o *maneotetrosa.*

b. Cuerpos resultantes de la condensación de un número desconocido, pero muy grande, de moléculas $C^6H^{12}O^6$ con eliminación de agua: *dextrinas, féculas, celulosas* $(C^6H^{10}O^5)^n$.

A estas tres clases conviene añadir la *inosita*, que tiene la fórmula de las glucosas, pero que no es una glucosa propiamente dicha, porque no es reductora. Sus productos de reducción son compuestos aromáticos; la inosita es un *ciclohexanehexol.*

El hecho de que los productos de reducción de la inosita sean compuestos pertenecientes a la serie aromática es de gran importancia. Demuestra que el origen de los compuestos de esta serie, que tan frecuentemente se encuentran en el vegetal, debe tener como punto de partida la inosita. La inosita es naturalmente inactiva.

Se extrae principalmente la inosita de las hojas de nogal, pero está muy esparcida en el reino de las plantas; a veces su existencia sólo es transitoria. Meillère (1908) la encontró en multitud de plantas herbáceas, en los tubérculos, en las raíces y en los frutos incompletamente desarrollados. Constituye una reserva del mismo modo que los demás hidratos de carbono.

La *pinita*, que existe en las exudaciones de ciertos pinos, es una metilinosita de la cual se obtiene por desmetilización una *inosita dextrógira* (Maquenne). Otra metilinosita, la *quebrachita*, extraída de la corteza de *Quebracho*, produce por desmetilización una *inosita levógira* (Tanret). La combinación de estas dos últimas inositas activas da una *inosita inactiva por compensación* o *racémica* (Maquenne y Tanret).

Existen, pues, cuatro inositas, como existen cuatro ácidos tartáricos. La inosita racémica ha sido encontrada en las bayas del *muérdago* por G. Tanret; es el primer ejemplo de un azúcar racémico en un organismo viviente.

A.—Grupo de las glucosas

Glucosa o dextrosa ($C^6H^{12}O^6$).—La glucosa se origina en la función clorofiliana. Frecuentemente se forma en la planta por desdoblamiento de la sacarosa. Se encuentra raras veces en estado de pureza en los zumos vegetales, donde va acompañada de su isómero, la *levulosa*, y de azúcar de caña. Los frutos ácidos a menudo contienen considerables cantidades de glucosa, por ejemplo, las uvas; de donde deriva el nombre de *azúcar de uvas*. La glucosa se forma en la hidrolisis de la mayor parte de las poliglucosas, ya sea en contacto con diastasas apropiadas, ya por la acción de los ácidos minerales diluídos e hirvientes. En estas condiciones se forman, junto con glucosa, una variable proporción de levulosa y de galactosa, según la naturaleza de la poliglucosa inicial. La comparación detenida del poder rotatorio, del poder reductor y de la solubilidad de las diferentes glucosas obtenidas permite afirmar la identidad absoluta de todos estos productos.

Las gomas dan, por hidratación, principalmente pentosas y galactosa.

Se forma también glucosa por hidrolisis de la materia mucosa de las laminarias y del membrillo. La acción de ciertas diastasas o la de los ácidos diluídos sobre los glucósidos (véase más adelante) produce glucosa. La glucosa es dextrógira: $[\alpha]_D = +52^0,5$. Este azúcar existe en realidad en tres formas que difieren por su poder rotatorio (C. Tanret).

Algunas semillas exalbuminadas contienen reservas de *manana* que, durante la germinación, se transforma en *manosa* en contacto con la *seminasa*. Como no se encuentra manosa en las semillas germinadas, pero sí glucosa, se puede creer que ésta procede, a lo menos en parte, de la isomerización de la manosa. El agente de esta transformación

sería, según Gatin (1908), una enzima que el autor ha encontrado en las semillas de *Borassus flabelliformis* (Palmiers).

Levulosa o fructosa ($C^6H^{12}O^6$). — Este azúcar, levógiro $[\alpha]_D = -101°,38$, acompaña a la glucosa en los jugos vegetales donde está muy esparcido. Estos dos cuerpos existen, en pesos iguales, en el azúcar invertido. El azúcar reductor de las hojas de remolacha es azúcar invertido.

Es probable que la función clorofiliana engendre simultáneamente glucosa y levulosa; por otra parte, siempre que la sacarosa se desdobla en la planta se ven aparecer estas dos materias azucaradas.

Resulta de experimentos hechos por Lobry de Bruyn y van Ekenstein, que las bases fuertes, como la potasa, y aun las bases débiles (óxido de plomo), transforman antes de 100°, y algunas veces a la temperatura ordinaria, la glucosa en levulosa y en manosa. A veces la glucosa no da más que manosa. Una transposición molecular semejante podría ocurrir en el vegetal, y las hemicelulosas llamadas *mananas* serían originadas por la glucosa.

En algunos zumos vegetales la levulosa predomina sobre la glucosa; esto es lo que se observa en muchos frutos, como los tomates, las peras y las cidras. La glucosa es más abundante que la levulosa en las uvas antes de la madurez. En el momento en que se ha llegado a ésta, existen los dos azúcares aproximadamente en iguales proporciones.

Estos dos azúcares reductores se hallan en todas las partes del vegetal, con frecuencia en pequeña cantidad: únicamente los frutos los contienen casi siempre en abundante cantidad como reservas. Sin embargo, la mayor parte de las veces las verdaderas reservas hidrocarbonadas consisten en fécula o sacarosa, es decir, en polímeros, con deshidratación, de los azúcares reductores.

Durante la germinación de los tubérculos ricos en fécula, la amilasa y la maltasa transforman este hidrato de carbono en glucosa. La inulasa transforma en levulosa a la inulina de los tubérculos del topinambur y de la dalia.

El papel fisiológico de la glucosa y el de la levulosa no

parecen ser el mismo, según veremos más adelante. El primero de estos azúcares sería sobre todo un alimento respiratorio; el segundo, un productor de celulosa.

Por la acción de los rayos ultravioletas, la molécula sufre una profunda degradación, hasta formarse aldehido fórmico y óxido de carbono (Bierry, Henri y Ranc, 1910).

Galactosa.—Este isómero de la glucosa y de la levulosa no existe en los vegetales, pero sí sus productos de condensación: *galactanas*, *galactoarabanas*, *galactoglucosanas*, se encuentran en casi todas las plantas.

Müntz llama *galactina* $(C^6H^{10}O^5)^n$ (*α-galactana*) a una substancia que ha encontrado en la harina de algunas leguminosas que no contienen fécula (alfalfa, trébol, meliloto, acacia, etc.). Su aspecto es gomoso, no se disuelve en el agua más que lentamente y después de hincharse. Por hidrolisis, la galactina produce galactosa. La *β-galactana* existe en las semillas de altramuz; es muy soluble en el agua. Los ácidos minerales diluídos la transforman en una mezcla de glucosa y galactosa. La hidrolisis de las gomas y la de las materias mucilaginosas producen mucha galactosa

Manosa o seminosa.—Esta materia azucarada, isómera de las precedentes, no ha sido todavía hallada en estado libre en los vegetales. En cambio, las *mananas,* que parecen ser un producto de condensación de la *manosa,* son abundantes en las plantas (semillas de *palmeras,* de liliáceas, etc.). La *celulosa de reserva* de ciertas semillas, o *seminina,* produce manosa por hidrolisis.

Sorbosa (la antigua *sorbina).*—Este azúcar, quetónico, como la levulosa, ha sido encontrado en el zumo del *Sorbus aucuparia,* en donde resulta de la oxidación de la sorbita por la acción del *Bacterium xylinum.* Es levógira.

Con el grupo de las hexosas que acabamos de estudiar están relacionados ciertos alcoholes. Recordamos que existen en los vegetales alcoholes en C^4 *(eritrita,* pág. 152) y en C^5 (uno solo, representante, la *adonita,* ha sido encontrado en el *Adonis vernalis).* Los alcoholes en C^6, o *hexitas* $C^6H^{14}O^6$, son los más importantes y los más esparcidos. Se forman a

consecuencia de procesos de reducción constantes en los vegetales; los principales son los siguientes:

Manita.—Substancia muy esparcida en los vegetales inferiores y superiores. Descubierta en el *maná* del fresno, se halla en muchas raíces (grama, acónito, apio), en la corteza de fresno y en la canela blanca, en los frutos del café, en las olivas verdes, etc. También se encuentra manita en los hongos.

Dulcita.—Substancia que se halla sobre todo en las plantas de la familia de las *celastráceas* y en la de las *escrofulariáceas*. Se la denomina, a veces, *melampirita* y *evonimita*. Se sabe que algunas hojas, desposeídas de fécula en la obscuridad, pueden contener fécula cuando se hacen flotar en soluciones de manita y de dulcita (pág. 91).

Sorbita.—Esta hexita existe en los frutos del *Sorbus aucuparia*, en las ciruelas, las manzanas, los nísperos, etc. La *bacteria de la sorbosa* la convierte en *d-sorbosa* (G. Bertrand).

Existen también alcoholes en C^7 (pág. 155) y en C^8.

B.—Grupo de las poliglucosas

α.—Compuestos de la fórmula $C^{12}H^{22}O^{11}$

Sacarosa o azúcar de caña.—Se encuentra la sacarosa en multitud de vegetales. Constituye una reserva hidrocarbonada de las más importantes en los tallos y en las raíces de ciertas plantas (caña de azúcar, remolacha). Cuando es utilizada por el vegetal, se desdobla por la acción de la *invertina,* convirtiéndose en *azúcar invertido,* mezcla equimolecular de glucosa y levulosa. Recíprocamente, es posible que este azúcar no sea un producto directo de la asimilación clorofiliana, sino que provenga, por un mecanismo inverso del anterior, de la condensación, con pérdida de 1 molécula de agua, de 1 molécula de glucosa y 1 molécula de levulosa. Esta condensación se efectuaría en ciertas células donde el azúcar de caña quedaría en estado de reserva, pudiendo ésta ser utilizada más tarde.

Según Icery, parece que la formación del azúcar de caña va precedida de la de los azúcares reductores. En efecto, si se analiza la parte superior de la caña de azúcar en una época en que aun lleva hojas, y la parte media de la caña cuyas hojas han caído, se encuentra que la parte alta, cerca de las hojas, contiene una notable can-

tidad de azúcares reductores, mientras que la parte media del mismo tallo contiene sobre todo sacarosa. Esta alcanza el máximo de su peso, y los azúcares reductores el mínimo, en el momento en que se detiene la vegetación. Así, donde los órganos clorofilianos todavía están en actividad, los azúcares reductores predominan; lo que parece probar que estos últimos constituyen el primer producto de la asimilación. Su condensación en sacarosa sólo se efectúa posteriormente.

La sacarosa es dextrógira $[\alpha]_D = 66°,54$; no reduce el reactivo cupropotásico.

La glucosa sola, por condensación, podría formar sacarosa: los embriones de cebada, mantenidos durante algunos días en una solución diluída de glucosa, contienen sacarosa. Conviene notar de paso esta anomalía; porque la sacarosa está constituída por 1 molécula de glucosa soldada con otra molécula de levulosa con eliminación de 1 molécula de agua. La maltosa, isómera de la sacarosa, puede convertirse en ésta. En efecto, si se pone una solución de maltosa en contacto con embriones de cebada, estos embriones contienen sacarosa.

La mayoría de los frutos contienen sacarosa (naranjas, fresas, albaricoques, etc.); este azúcar se forma en las manzanas durante su maduración, mientras que la materia amilácea poco a poco desaparece (Lindet).

Cuando las plantas contienen un jugo celular marcadamente ácido, contienen poca sacarosa: parece que la condensación de los azúcares reductores está entonces compensada por la acción hidrolizante que ejercen los ácidos sobre la sacarosa.

Para investigar el azúcar de caña en los vegetales cuando este azúcar es poco abundante o es dudosa su presencia, Bourquelot emplea una solución de invertina. Se prepara un extracto alcohólico de la parte de la planta en que se busca el azúcar, se exprime y se evapora en bañomaría después de añadir carbonato cálcico; se disuelve el residuo mediante un poco de agua saturada de timol (a fin de evitar la presencia de microorganismos), y luego se hace actuar sobre este líquido la solución de invertina. En seguida se clarifica con subacetato de plomo; finalmente se somete el líquido al examen polarimétrico y al tratamiento con el reactivo de Fehling.

La sacarosa acompaña casi siempre, si no siempre, a las reservas nutritivas de las plantas fanerógamas, cualesquiera que sean. En cierto modo, este principio es necesario para los cambios nutritivos (Bourquelot).

Maltosa.—Este hidrato de carbono, isómero del anterior, por la acción de la hidrolisis o de las diastasas,

sólo da 2 moléculas de glucosa. Se encuentra a menudo en los vegetales solamente en pequeña cantidad (hojas). La maltosa es dextrógira $[\alpha]_D = +137°,9$; reduce directamente el líquido de Fehling como 0,61 de glucosa.

Se origina de la acción de la amilasa sobre el engrudo de almidón; al parecer, su existencia en la planta no es más que temporal.

Lactosa.—La lactosa, o *azúcar de leche,* isómera de la sacarosa, dextrógira $[\alpha]_D = 55°,3$, da por hidrolisis 1 molécula de glucosa y 1 molécula de galactosa. Reduce el líquido de Fehling como 0,70 de glucosa. Se halla en la leche de los mamíferos (3 a 6 por 100, según la especie). Bouchardat ha demostrado que existe este azúcar en el jugo de un árbol de la familia de las sapotáceas, el *zapote (Sapota Achras);* está, pues, poco esparcido en el reino vegetal. Por el contrario, las plantas contienen complejos, como *galactanas* y *galactoarabanas,* que producen galactosa por desdoblamiento hidrolítico; lo mismo ocurre con las materias pécticas, tan abundantes en las plantas. La lactosa contenida en la leche debe probablemente su origen a la galactosa de los cuerpos complejos antes citados (Müntz).

Trehalosa. — Este azúcar se encuentra en algunos hongos, especialmente en el *Boletus edulis.* Por hidrolisis forma 2 moléculas de glucosa. Es dextrógira, no reductora.

Entre las hexobiosas interesantes que no tienen la fórmula $C^{12}H^{22}O^{11}$, debe citarse el siguiente azúcar.

Vicianosa $C^{11}H^{20}N^{10}$.—Es un azúcar reductor que se obtiene por hidrolisis diastásica de un glucósido cianhídrico, la *vicianina.* Es dextrógira y muy soluble en el agua. Es una *biosa* de tipo nuevo, formada por la unión de 1 molécula de glucosa y 1 molécula de *l.* arabinosa. La emulsina la hidroliza completamente formando 1 molécula de cada uno de estos azúcares:

$$C^{11}H^{20}O^{10} + H^2O = C^6H^{12}O^6 + C^5H^{10}O^5.$$

(G. Bertrand y Weisweiller, 1910).

β. —Compuestos de la fórmula $C^{18}H^{32}O^{16}$

Rafinosa o melitriosa. — Este azúcar, cuya fórmula es $C^{18}H^{32}N^{16} + 5\ H^2O$, resulta de la unión de 1 molécula de levulosa, 1 molécula de glucosa y 1 molécula de galactosa, con eliminación de 2 moléculas de agua. Hallada primeramente en el *maná de Austra-*

lia, ha sido encontrada también en los gérmenes del trigo, en la cebada, en las semillas de algodón y, sobre todo, en las melazas de refinería. Bourquelot y Bridel (1909) la han señalado en dos semillas de leguminosas: *Erythrina fusca*, *Entada scandens*. No es reductora.

Recordaremos, a propósito de la rafinosa, una notable aplicación que ha hecho de Vries de las propiedades plasmolíticas de la célula para fijar los pesos moleculares. En efecto, hacía mucho tiempo que se había considerado la rafinosa como un isómero de la sacarosa. Si se comparan estas dos substancias desde el punto de vista de su energía plasmolítica, es necesario emplear, para obtener líquidos isotónicos, aproximadamente 3 partes de rafinosa para 2 de sacarosa. Se deduce de esto que, si la molécula de esta última contiene 12 átomos de carbono, la de la rafinosa debe contener 18: este hecho ha sido confirmado por consideraciones de orden químico.

Melecitosa.—Isómera de la anterior, resulta de la condensación de 2 moléculas de glucosa; se encuentra en el maná del *Pinus larix*, y en algunos otros manás. La *mielada* del tilo contiene hasta 40 por 100 (Maquenne).

Maninotriosa.—Encontrado en el maná del fresno, junto con maneotetrosa, este azúcar procede del desdoblamiento, debido a los ácidos débiles o a la invertina, de la *estaquiosa* o *maneotetrosa*. Por hidrolisis da 2 moléculas de galactosa y 1 molécula de glucosa. Es dextrógira y reductora.

Gencianosa.—Ha sido encontrada en la raíz de genciana. Es dextrógira, no reductora.

Algunos polisacáridos sólo se desdoblan por la acción de dos enzimas diferentes. En efecto, toda diastasa posee un poder limitado: así es que la *gencianosa*, triosa de la fórmula $C^{18}H^{32}O^{16}$, está formada por la condensación de 2 moléculas de glucosa y 1 molécula de levulosa, con eliminación de 2 moléculas de agua. Sometida a la acción de la invertina, la gencianosa cede 1 molécula de levulosa; las 2 moléculas de glucosa quedan en forma de una hexobiosa, la *genciobiosa*. Para hidrolizar a ésta es necesario un segundo fermento soluble, la *genciobiasa*. Bourquelot ha dado la siguiente fórmula de la acción diastásica. Para obtener la hidrolisis integral de un polisacárido se necesitan tantos fermentos, menos uno, como moléculas de hexosas contiene el polisacárido. En la hidrolisis de un polisacárido los fermentos deben actuar sucesivamente en un orden determinado.

γ.—Compuestos de la fórmula $C^{24}H^{42}O^{21}$

Estaquiosa o maneotetrosa.—Este azúcar, descubierto en 1890 por Schulze y von Planta en el bulbo del *Stachys tubifera* (labiadas), ha sido identificado en 1903 por C. Tanret con la maneo-

tetrosa extraída del maná del fresno. Es un tetrasacárido que forma. por hidrolisis, 1 molécula de glucosa y 2 moléculas de galactosa. Es dextrógira y no reductora. G. Tanret (1912) la ha encontrado en muchas semillas de leguminosas: judías, lentejas, trébol, galega, soja. El azúcar extraído de las judías y de los altramuces por Schulze, y que él llamó *lupeosa,* no es más que estaquiosa impura.

δ. — Compuestos de la fórmula $(C^6H^{10}O^5)^n$

Dextrinas.—Se designan con este nombre unas substancias fuertemente dextrógiras, incristalizables, solubles en el agua, insolubles en el alcohol, no reductoras.

Se las puede considerar como un término intermedio entre la fécula y las substancias azucaradas. La fécula, hidrolizada por los ácidos diluídos, o sometida a la acción de la amilasa, suministra dextrinas. Éstas se encuentran en los granos de los cereales antes de su madurez.

Existen dos grupos de dextrinas: las *amilodextrinas,* que, del mismo modo que la fécula, toman color azul por el yodo y constituyen el primer término de la transformación de la fécula sometida a la acción de la amilasa; las *acrodextrinas,* que no se colorean por el yodo.

La dextrina es considerada a menudo, no como una substancia de reserva, sino sólo como un compuesto transitorio formado por la acción de las diastasas sobre la fécula. Sin embargo, la dextrina funciona, a veces, como materia de reserva. Así, en un bulbo de jacinto, tomado en cualquier momento de su desarrollo, existe siempre cierta cantidad de dextrina junto con la fécula. Del mes de enero al mes de marzo, el bulbo está en vías de formación; en el mes de mayo su vida está amortiguada y, en el mes de noviembre, ha principiado ya el consumo de las reservas. He aquí la tabla de las proporciones de dextrina y de fécula durante la evolución del bulbo:

	Dextrina por 100	Fécula por 100
18 de enero	18	5
17 de marzo	22	16
27 de mayo	26	29
11 de noviembre	21	26
10 de febrero	15	4

La fécula pasa por un máximo al principio de la vida amortiguada (27 de mayo): este hidrato de carbono se comporta, pues,

como una substancia de reserva. Durante la formación del bulbo, la proporción de dextrina predomina sobre la de la fécula; parece, pues, que la dextrina sirve para la formación de la fécula que se almacena. Del mismo modo, mientras el bulbo es consumido (noviembre a febrero), la dextrina que él contiene procede de la digestión de la fécula. Sin embargo, en el mes de mayo, cuando el bulbo entra en el estado de reposo, se debería observar la desaparición de la dextrina, o a lo menos se debería encontrar un mínimo de ésta. Como lo que ocurre es lo inverso, se deduce de ello que esta substancia es una materia de reserva del mismo grado que la fécula.

La dextrina desempeña, pues, muchos papeles distintos: 1.°, es una substancia que sirve para formar la fécula en los órganos de reserva en vías de formación; 2.°, es un producto de hidratación de la fécula durante la digestión de las reservas; 3.°, es una reserva propiamente dicha, independiente de la fécula, durante el período de vida amortiguada (Leclerc du Sablon).

Fécula.—Se reconoce la presencia de la fécula por la coloración azul que toma este hidrato de carbono en contacto con el agua de yodo, o mejor, con una solución de yodo en yoduro potásico. La presencia de un indicio de ácido yodhídrico o de un yoduro alcalino parece ser indispensable para que aparezca la coloración. La fécula está extremadamente esparcida en el reino vegetal y en todas las partes de la planta. En algunas su existencia no es más que transitoria (hojas). Se almacena con preferencia en las raíces, en ciertos tallos, y sobre todo en las semillas. Éstas, excepto algunas oleaginosas y algunas semillas de leguminosas muy ricas en nitrógeno, contienen siempre fécula. El origen de la fécula debe fijarse, como sabemos, en la función clorofiliana o, mejor, en la condensación muy rápida que experimentan los azúcares reductores, por de pronto en sacarosa y después en fécula.

La abundancia y hasta la simple presencia de la fécula no están del todo en relación con la intensidad de la asimilación.

La mayoría de los cloroplastos de las liliáceas nunca contienen fécula; en las plantas dicotiledóneas, el hecho es mucho más raro. Otros hidratos de carbono reemplazan entonces a la fécula.

Entre los hechos más singulares relativos a la ausencia

de la fécula, debe citarse el caso de las hojas de trigo, donde este hidrato de carbono todavía no ha sido encontrado, y esto que es sabido que el grano de trigo es rico en fécula (Dehérain).

La presencia de la *amilasa*, constante en la mayor parte de los órganos vegetales, explica por qué la fécula se fluidifica tan fácilmente y puede pasar del lugar donde se ha formado a otro sitio de la planta. Recíprocamente, la fécula, depositada en forma definitiva en un órgano, como el tubérculo de la patata, por ejemplo, sufrirá, en el momento de la germinación, la acción de diastasas que la convertirán en azúcar soluble destinado a alimentar los nuevos brotes.

El *aspecto microscópico* que presentan los granos de fécula es muy variable, según la planta considerada. El tamaño de estos granos varía de $\frac{1}{1000}$ a $\frac{1}{20}$ de milímetro de diámetro.

Los granos de fécula presentan al microscopio estrías concéntricas, y a veces estrías radiales.

La fécula es insoluble en el agua. Triturada con un poco de agua da un líquido que se colorea de azul por el yodo, probablemente a causa de la presencia en este líquido de una pequeña cantidad de *amilodextrina;* esta última substancia es el primer producto de la transformación que los ácidos diluídos hacen sufrir a la fécula. Se la llama también *fécula* o *almidón soluble;* su formación precede a la de las dextrinas.

Desleída en agua, la fécula da un líquido turbio; calentado éste a 100° se aclara, pero no tarda en volverse viscoso a causa de la hinchazón de los granos. Este líquido viscoso constituye lo que se llama el *engrudo de almidón*. Si se continúa calentando, una parte de la fécula se vuelve soluble. Se puede acelerar esta transformación calentando fécula con agua a presión a la temperatura de 150°. La *fécula soluble* así obtenida es blanca, amorfa y soluble en el agua.

En realidad, la fécula soluble, preparada en caliente, es una mezcla de cuerpos que difieren unos de otros por su poder rotatorio, su acción reductora sobre el líquido de Fehling, su

coloración por el yodo y su solubilidad en el alcohol de diversas concentraciones (C. Tanret, 1909).

Se obtiene una fécula soluble, no solamente en el agua caliente, sino también en el agua fría, tratando un engrudo de almidón del 1 al 2 por 100 con un gran exceso de acetona. El cuerpo así preparado es blanco, pulverulento y muy ligero [Fernbach, 1912] (1).

A más de 150°, la fécula se convierte en dextrina.

La disolución, o mejor el ataque de los granos de fécula por la diastasa, no se efectúa siempre de la misma manera. En algunos casos (patata) la disolución es progresiva; el grano desaparece poco a poco conservando su forma primitiva. En otros casos (gramíneas) la diastasa ejerce corrosiones locales, como si existiesen partes de menor resistencia. El grano se divide hasta que desaparece por completo.

La amilasa primero transforma la fécula en *amilodextrina;* ésta, luego, origina las dextrinas propiamente dichas, solubles en el agua y de peso molecular menos elevado. Por último, por efecto de un mecanismo que ha sido detenidamente estudiado por muchos sabios, las dextrinas forman *maltosa*. Ésta, que sólo existe en la planta en pequeña cantidad, sufre evidentemente la acción de una nueva enzima, la *maltasa,* que la convierte en glucosa.

Mientras que la acción de la amilasa conduce en último término a la maltosa, la acción de los ácidos diluídos (minerales y orgánicos) a 100° nunca da maltosa, sino sucesivamente fécula soluble, *eritrodextrina* (que se colorea en rojo por el yodo), *acrodextrina* (que no se colorea por el yodo) y, finalmente, glucosa.

La estructura química de la fécula de patata (que es probablemente la de todas las féculas) ha sido recientemente estudiada de nuevo de una manera muy completa por Maquenne y por Maquenne y Eug. Roux (1904 1906). Estas nuevas investigaciones debilitan muchas antiguas aserciones relativas a la sacarificación diastásica

(1) Se obtiene fácilmente fécula soluble dejando una semana la fécula de patatas en maceración en ácido clorhídrico diluído (1 parte del ácido comercial y 3 de agua), agitando de vez en cuando, y luego lavándolo con agua hasta que el líquido de loción no tenga reacción ácida y secándolo a la temperatura ordinaria.—C B

de esta materia: vamos a exponer algunos pormenores respecto de este asunto.

La fécula ha sido considerada como formada por dos substancias, una soluble *(amilosa, granulosa)* y otra insoluble *(amilocelulosa)*, que no representaría, según la opinión corriente, más que del 3 al 4 por 100 del total de la fécula. La primera de estas substancias puede ser separada de la segunda por la acción del agua o de la malta.

En realidad, cuando se abandona a sí mismo el engrudo de almidón *transparente*, se forma poco a poco en la masa una substancia amorfa: este fenómeno ha sido denominado por Maquenne *retrogradación*. Consiste en el retroceso al estado insoluble de una materia que estaba disuelta en el momento de la preparación del engrudo. Los grumos que se forman se contraen, se vuelven opacos y caen al fondo de la masa límpida. Si se recoge en un filtro esta masa cuajada, se observa que apenas es soluble en el agua hirviente y que la amilasa de la malta sólo la ataca parcialmente: queda un residuo que el yodo no tiñe. Estas propiedades eran las que los autores antiguos habían atribuído a la amilocelulosa; pero, mietras que ellos no encontraban más que de 3 a 4 por 100 en la fécula, se obtiene, en realidad, cerca del tercio de la masa. Esta substancia no es, pues, una impureza; desempeña un papel importante en la constitución de la fécula. Esta retrogradación espontánea aumenta por la acción del frío, del tiempo, de la adición cuidadosa de ácidos; los álcalis diluídos, añadidos en dosis crecientes, primero favorecen la retrogradación y después la retardan y la dificultan; la amilocelulosa es, en efecto, soluble en los álcalis. Una enzima especial, la *amilocoagulasa* (Wolff y Fernbach), que se encuentra en la malta verde y en gran número de vegetales, favorece mucho la retrogradación.

Esta amilocelulosa adquiere paulatinamente en contacto con el aire húmedo la propiedad de teñirse de azul con el yodo; se disuelve en el agua a presión a 150°, formando un líquido casi límpido, que se colorea de azul por el yodo. Por enfriamiento, se separa de este líquido un polvo blanco, muy semejante a las féculas finas naturales (a la de arroz), que toma color azul en contacto con el yodo. Esta fécula artificial es integralmente soluble en la potasa y no se gelatiniza en contacto con el agua hirviente, como la fécula natural. Representa, pues, amilocelulosa pura, o *amilosa*, como propone Maquenne llamarla desde ahora. Esta amilosa forma aproximadamente 80 por 100 del peso de la fécula.

En la fécula natural, la amilosa está asociada con una substancia que comunica al engrudo su conocida viscosidad e impide que se disuelva integralmente en los álcalis; para esta substancia Maquenne reserva el nombre de *amilopectina*. Esta materia ha sido aislada recientemente, como indicaremos más adelante.

Se puede, pues, considerar la retrogradación de la siguiente

manera. Hirviendo fécula con agua, la amilosa probablemente se disuelve en su totalidad: la amilopectina se hincha. Por enfriamiento, la amilosa, poco soluble, se deposita formando los grumos característicos del engrudo retrogradado, especie de cristalización confusa. Esta amilosa solidificada no es atacable ya por la diastasa, mientras que la amilopectina todavía lo es. Una sacarificación de la masa la dejará sola entre los demás productos afectados por la acción de la diastasa. Así se explica esta acción incompleta de la amilasa sobre el engrudo viejo, observada hace largo tiempo, y atribuída a la presencia, en la fécula, de una substancia celulósica resistente.

La amilosa de la fécula natural se disuelve integralmente en el agua hirviente, puesto que el engrudo *reciente* es sacarificado en totalidad por la amilasa. Maquenne explica así por qué la *fécula artificial* no se disuelve más que a presión a unos 150°. En este último caso, en efecto, a consecuencia del modo de preparación de la fécula artificial antes expuesto, no se trata ya más que de *amilosas muy condensadas,* poco solubles, mientras que, en el primer caso, las amilosas van acompañadas de sus homólogos inferiores, mucho más solubles y que gozan de poder disolvente respecto de ellas.

La amilosa no forma nunca engrudo; sólo es atacada por la amilasa cuando ha sido previamente disuelta. Es notable que dé con el yodo una coloración azul más intensa que la fécula primitiva de que procede y cuyos caracteres microscópicos posee.

La amilopectina es un cuerpo gelatinoso, insoluble en el agua y la potasa, y rápidamente liquidable en contacto con la amilasa.

En resumen, la amilocelulosa, o actualmente *amilosa,* es idéntica a la granulosa de los autores antiguos; existe formada en el grano de fécula natural en la proporción de unos 80 por 100. Deben comprenderse bajo el nombre de *amilosas* todos los términos de la familia de los cuerpos que toman color azul con el yodo, se disuelven enteramente en la potasa o en el agua sobrecalentada y se sacarifican sin formación de dextrinas como residuo. Junto con amilosa, la fécula contiene de 15 a 20 por 100 de un principio mucilaginoso, la *amilopectina*. Esta se hincha, sin disolverse sensiblemente, en el agua hirviente o en los álcalis, es sacarificada por la amilasa. El engrudo de almidón está formado por una solución perfecta de amilosa espesada por la amilopectina (Maquenne y Eug. Roux).

La amilosa y la amilopectina han sido separadas una de otra de la siguiente manera: la Sra. Gatin-Gruzewska ha demostrado que la amilopectina forma la *cubierta* del grano de fécula. Estas cubiertas forman un complejo de substancia mineral y amilopectina. Si se hace actuar sobre la fécula de patatas cruda cierta cantidad de una solución alcalina en presencia de mucha agua, la envoltura del grano se hincha, después se rompe; la substancia interior se solubiliza y sale al exterior. Neutralizando el álcali, la envoltura se contrae, lo que contribuye a la separación de las dos substancias. Las envolturas vacías, formadas por la amilopectina, se precipitan; el líquido que

queda encima contiene la amilosa disuelta. Esta última, con el yodo toma color azul franco, mientras que las envolturas toman una coloración azul violácea. Así se extrae del engrudo entre 40 y 45 por 100 de amilopectina.

Cada envoltura del grano de fécula está formada por *una serie de sacos metidos unos dentro de otros,* insolubles en el agua fría, que se hinchan en el agua caliente, formando engrudos gelatinosos que no retrogradan y que se liquidan en el agua sobrecalentada, pero sin retrogradación.

La amilosa obtenida por el procedimiento antes descrito se presenta, después de desecación, en forma de polvo blanco, fino, soluble en parte en el agua fría y totalmente en el agua a 100-120°. Sus soluciones son opalescentes. Esta amilosa (fécula soluble pura) está formada por un conjunto de substancias parecidas, en diferentes estados de condensación y, tal vez, de hidratación: las menos condensadas son solubles en el agua fría.

Maquenne hace notar, a propósito de esta separación de los dos componentes del grano de fécula, que tal vez no exista transición brusca entre el grupo de las amilosas poco solubles, que ocupan la parte baja de la serie, y el de las amilopectinas que son menos resistentes. En realidad, una fécula natural debe contener cuerpos que presentan, a la vez, las propiedades, más o menos marcadas o atenuadas, de la amilosa y de la amilopectina. La separación de cuerpos tan próximos es, pues, muy difícil, y así se explica por qué el examen colorimétrico efectuado en presencia del yodo apenas indica más que 20 por 100 de amilopectina, mientras que según el modo de separación indicado por la Sra. Gatin-Gruzewska, se encuentra más del doble, como se ha dicho antes.

Lo que acabamos de exponer relativamente a la constitución del grano de fécula demuestra de un modo claro que este hidrato de carbono es un producto esencialmente complejo, que contiene agrupaciones de substancias en estados muy diversos de condensación y, por consiguiente, de pesos moleculares muy variables.

Inulina.—Este hidrato de carbono, que es siempre idéntico cuando ha sido convenientemente purificado, desempeña en los vegetales que lo contienen el mismo papel que la fécula. Se encuentra sobre todo en las raíces y los tubérculos de muchas compuestas (dalia, topinambur, énula, achicoria, salsifís, etc.). También se halla en los tallos de estas plantas.

La inulina está formada por gránulos o *esferocristales,* no organizados como los de la fécula. Es casi insoluble en el agua fría, pero muy soluble en el agua hirviente, levógira $[\alpha]_D = -39°,5$, no se vuelve azul con el yodo y no reduce el líquido de Fehling.

Los ácidos diluídos, y aun el agua hirviente, la sacarifican con formación de 12 moléculas de levulosa y 1 molécula de glucosa. También es sacarificada por la *inulasa*. A pesar de su escasa solubilidad en el agua fría, la inulina se encuentra en su mayor parte disuelta en los jugos vegetales; parece que estas soluciones están entonces sobresaturadas.

La inulina va a menudo acompañada de *seudoinulina* (más soluble en el agua y menos levógira que la inulina), *inulenina*, *heliantenina* y *sinantrina* (C. Tanret, 1893).

Muchos vegetales pertenecientes a diversas familias, distintas de las compuestas, contienen hidratos de carbono próximos a la inulina, pero que difieren de ella por su poder rotatorio y por su mayor solubilidad en el agua fría.

La inulina parece ser probablemente un producto inmediato de la asimilación clorofiliana. Se hallan pequeñas cantidades de ella en el parénquima de las hojas jóvenes. La raíz de achicoria la va almacenando a medida que adelanta su vegetación, mientras que el azúcar reductor disminuye paralelamente (Grafe y Vouk, 1912).

Si se mantienen aproximadamente a 0° raíces de achicoria cargadas de inulina, el peso de este hidrato de carbono disminuye y el de la levulosa aumenta. Cuando vuelven estas raíces a la temperatura ordinaria, la proporción de la materia azucarada recobra su valor normal, pero la proporción de inulina no aumenta de nuevo. El modo de comportarse la inulina se aparta, pues, totalmente del comportamiento de la fécula en la patata, en la cual, en las mismas condiciones, vuelve a formarse la fécula.

Cuando las raíces de achicoria dan brotes, las reservas de inulina se movilizan, después de hidrolisis previa, formando levulosa (Grafe y Vouk, 1913).

Asparagosa. — Este hidrato de carbono $(C^6H^{10}O^5)^{15}.H^2O$ se encuentra, al lado de la sacarosa, en las raíces de la esparraguera. Se halla también en las bayas verdes de esta planta. Forma esferocristales microscópicos, solubles en el agua fría. La asparagosa es levógira $[\alpha]_D = -35°,1$; por hidrolisis da una mezcla de glucosa y levulosa ($^1/_{13}$ de glucosa); no reduce el líquido de Fehling y no se colorea con el yodo. Va acompañada de un azúcar congénere, la *seudoasparagosa* (G. Tanret, 1909).

Levosina $(C^6H^{10}O^5)^4$. — Este cuerpo ha sido encontrado por G. Tanret (1891) en las semillas de algunos cereales (cebada, trigo, centeno). Es muy soluble en el agua, inatacable por la amilasa y sacarificable por los ácidos diluídos, dando sobre todo levulosa.

Celulosas.—La celulosa constituye la parte fundamental de todas las plantas y en cierto modo forma su esqueleto. El grado de condensación de su molécula es desconocido. Su

análisis corresponde a la fórmula $(C^6H^{10}O^5)^n$. Sería preferible hablar de *celulosas* en vez de *celulosa*, porque nada prueba que la celulosa sea una sola especie química. Según Cross, Bevan y Beadle, existirían tres suertes de celulosa.

La celulosa presenta los siguientes caracteres. Toma color azul en contacto con el yodo cuando ha sido previamente tratada por el ácido sulfúrico o el ácido fosfórico concentrados, o por el cloruro de zinc. La coloración azul desaparece por la adición de un exceso de agua, lo que distingue la celulosa de la fécula, en la cual la coloración azul persiste a pesar de esta adición. Los reactivos ácidos anteriores, añadidos al yodo, determinan la transformación parcial de la celulosa en amilocelulosa o en *hidrocelulosa*.

La celulosa es insoluble en todos los reactivos, neutros, ácidos, alcalinos; se disuelve en una solución amoniacal de óxido de cobre (líquido de Schweitzer), de la cual los ácidos la precipitan. También es soluble en el sulfuro de carbono en presencia de un álcali, así como en una mezcla de una parte de ácido clorhídrico concentrado y una parte de cloruro de zinc. Tiene una notable afinidad para los colorantes ácidos. En la planta, la celulosa está mezclada o impregnada con diversas substancias, insolubles en el agua, y principalmente con *hemicelulosas* más o menos fácilmente sacarificables por los ácidos diluídos y calientes, *lignina*, *vasculosa* y *materias minerales*. El ácido sulfúrico concentrado y frío disuelve la celulosa después de haberla endurecido (papel pergamino). Si se diluye con agua este líquido y se hace hervir largo tiempo, se obtiene glucosa. Los ácidos diluídos sólo la atacan débilmente.

La celulosa y la fécula derivan de la condensación de la misma materia inicial, la glucosa. Pero, mientras que la fécula produce por hidrolisis maltosa, la celulosa da, en ciertas condiciones, un isómero de ésta, la *celosa*, materia dextrógira, soluble en el agua, desdoblable por hidratación en 2 moléculas de glucosa. No se observa más que formación de glucosa cuando se trata directamente la celulosa por el ácido sulfúrico concentrado con adición ulterior de agua y ebullición del líquido, como hemos dicho hace poco.

La celosa no ha sido encontrada todavía en los vegetales (Skraup). La maceración de *Aspergillus,* las almendras del albaricoquero y del almendro, y las semillas de cebada, contienen una enzima *específica,* la *celasa,* que hidroliza la celosa (Bertrand y Holderer; Bertrand y Compton, 1909, 1910).

El *Bacterium xylinum* tiene la propiedad de transformar la dextrina y la levulosa en celulosa. La celulosa verdadera no parece ser una materia de reserva.

Según ciertos autores, existiría un producto vegetal mal definido, la *oxicelulosa*, capaz de formar, como las pentosanas, furfurol cuando se calienta con ácidos diluídos. Se puede obtener artificialmente esta oxicelulosa por oxidación de la celulosa, y aun de la fécula, mediante el ácido nítrico o el ácido crómico.

La *hidrocelulosa* es un cuerpo insoluble, friable, que se forma, según A. Girard, cuando se trata la celulosa por una pequeña cantidad de un ácido mineral cualquiera.

En resumen, conviene reservar el nombre de *celulosa* a la materia que queda como residuo cuando se ha tratado hasta agotamiento una substancia vegetal con éter, para quitarle las grasas y las ceras, con agua, con los álcalis y con los ácidos diluídos y calientes. Se tratará el residuo insoluble por el óxido de cobre amoniacal, y se precipitará el líquido límpido con un ácido. Los copos formados, recogidos en un filtro, lavados con agua hirviente y con alcohol, y luego desecados, representan celulosa casi pura.

A veces se aísla la celulosa de los tejidos vegetales utilizando su propiedad de resistir a la acción de las soluciones alcalinas concentradas a temperaturas inferiores a 180° (método de Lange).

El tejido de las setas está formado por *quitina* y *calosa* (Mangin). Esta quitina parece muy próxima, si no idéntica, a la que se extrae del caparazón de muchos insectos y crustáceos. La calosa es insoluble en los álcalis cáusticos diluídos; se vuelve soluble cuando ha sido calentada con ácido sulfúrico diluído que la convierte en una nueva glucosana, la *fongosa* (C. Tanret).

Glicógeno. — Este hidrato de carbono $(C^6H^{10}O^5)^n$, idéntico al que se encuentra en el hígado, ha sido observado en muchos hongos y mucedíneas. La levadura proporciona grandes cantidades del mismo. El glicógeno da, por hidrolisis, maltosa y luego glucosa. Es una substancia de reserva que toma color pardo con el yodo, es dextrógiro y soluble en el agua, a la cual vuelve algo opalescente. Politis (1912) lo ha encontrado en muchas fanerógamas de la familia de las bromeliáceas y de las orquídeas. El glicógeno se forma en las células, en las que más tarde se deposita el oxalato cálcico.

Hemicelulosas. — Las hemicelulosas acompañan siempre a la celulosa propiamente dicha en todos los tejidos vegetales. Hemos dicho ya algo de esto a propósito de las pentosanas (pág. 152). Las hemicelulosas se disuelven en la lejía de sosa más o menos fácilmente, según su naturaleza. Para algunos autores, la celulosa se presentaría en muchas modificaciones físicas que resisten diversamente a la acción de la sosa diluída. La mayoría de las hemicelulosas son atacadas por los ácidos diluídos en caliente, formándose, por hidrolisis, xilosa, arabinosa, galactosa, manosa: de donde derivan los nombres de *arabanas, xilanas, galactoarabanas*, *mananas*, dados a las hemicelulosas según la naturaleza del azúcar pentósico o hexósico formado en la hidrolisis. Estas substancias corresponden a las *materias incrustantes* de los antiguos autores. (Digamos, de paso, que el nombre de *hemicelulosas* no es muy acertado, porque estas substancias nada tienen de común con la célula propiamente dicha.)

Las hemicelulosas que contienen xilana o arabana forman también furfurol cuando son tratadas por los ácidos diluídos y calientes. Existen procedimientos de determinación cuantitiva del furfurol que permiten apreciar, a partir de la cantidad de furfurol formada, la proporción de xilosa o de arabinosa contenida en la materia inicial.

Casi todas las semillas contienen hemicelulosas. Schulze ha encontrado, en las semillas del altramuz amarillo y en las de muchas leguminosas, una substancia, insoluble en el agua, que, calentada con ácido sulfúrico diluído, forma galactosa y que, oxidada con el ácido nítrico, da ácido múcico. Ha dado a esta substancia el nombre de *paragalactana*. Durante

la germinación, la paragalactana es empleada como materia de reserva.

Las *mananas* existen en las semillas de muchas leguminosas; son fácilmente hidrolizables por los ácidos diluídos, mientras que las mananas extraídas de las semillas de las palmeras lo son difícilmente. El *salep,* substancia hidrocarbonada contenida en los tubérculos de orquídeas, contiene una manana. Las nueces del *Phytelephas macrocarpa* (corozo) sirven para la preparación de la manosa.

En resumen, las hemicelulosas resisten mucho menos que la celulosa propiamente dicha a la acción de los ácidos diluídos y calientes. Los productos de su hidrolisis son variables con la hemicelulosa considerada. Las hemicelulosas se disuelven en el óxido de cobre amoniacal después de haber actuado los ácidos diluídos fríos. Las hemicelulosas son, pues, *anhídridos* condensados, ya de las hexosas $(C^6H^{10}O^5)^n$, ya de las pentosas $(C^5H^8O^4)^n$, o, generalmente, combinaciones de estas dos suertes de anhídridos. Por otra parte, estos anhídridos condensados de las hexosas pueden formar por hidrolisis, según ya hemos dicho, ya sea glucosa y manosa, ya glucosa y galactosa, ya galactosa sola. Todas las hemicelulosas no son substancias de reserva.

Observaciones sobre la presencia de ciertas hemicelulosas en los vegetales. — Schulze designa con el nombre de *manocelulosa* una substancia análoga a la celulosa, contenida en el café, el coco, las tortas de sésamo, y que por hidrolisis forma manosa. Esta materia resiste a los ácidos minerales diluídos y calientes; se la debe considerar, pues, como distinta del anhídrido de la manosa (manana), que se disuelve fácilmente en los ácidos diluídos y que se encuentra en muchos vegetales. Puede creerse que existen muchos anhídridos de la manosa en las membranas celulares, y que éstos presentan diferentes grados de resistencia respecto de los ácidos.

G. Bertrand ha demostrado que, en las *gimnospermas,* la hemicelulosa llamada *xilana* falta casi por completo, estando reemplazada por un hidrato de carbono del todo diferente: la *manocelulosa,* de que acabamos de hablar. Las cicadáceas y las coníferas contienen mucha, pero las plantas de la tercera familia de las gimnospermas, las *gnetáceas,* no dan más que un escaso rendimiento comparado con el de las otras dos familias. Este hecho es tanto más merecedor de atención en cuanto las gnetáceas, en general, no son consideradas

como verdaderas gimnospermas, sino más bien como un término de tránsito entre los dos grandes grupos de fanerógamas.

Amiloide.—Se da este nombre a una parte de las paredes celulares que, como la fécula, toma directamente color azul con el yodo. El amiloide se halla en las paredes celulares de muchos vegetales. Funciona en las semillas como una materia de reserva.

Winterstein lo ha aislado de las semillas de capuchina: precipitado de su solución acuosa por el alcohol, el amiloide forma una jalea voluminosa, incolora y transparente. Los ácidos diluídos y calientes lo hidrolizan con producción de galactosa y xilosa. El amiloide es, pues, una especie de hemicelulosa cuya composición corresponde a la fórmula $C^{17}H^{30}O^{15}$.

Gomas. — Son substancias complejas, próximas a los hidratos de carbono y a los compuestos pécticos. Unas son solubles en el agua y comunican a este líquido gran viscosidad (goma arábiga); otras se hinchan en contacto con el agua y sólo ceden a ésta una pequeña cantidad de materia soluble (goma tragacanto). Las gomas son insolubles en el alcohol y el éter. Sometidas a la acción del ácido sulfúrico diluído y caliente se transforman, pero no integralmente, en azúcares pentósicos y hexósicos: en este concepto pueden ser comparadas con las hemicelulosas. Se puede decir que, en general, están formadas principalmente por una *mezcla de arabana* y *galactana*. Contienen además, según Frémy, un ácido particular, el *ácido gúmico,* unido a la cal, así como materias incristalizables, tanino, materias colorantes y algunas substancias nitrogenadas. La goma arábiga, que exuda de las plantas del género *Acacia,* forma por hidrolisis una mezcla de arabinosa y de galactosa; este último azúcar es el que más abunda. Por oxidación nítrica da ácido múcico en tanta mayor proporción cuanto más pobre es en arabinosa. Las gomas de cerezo y de melocotonero, por el contrario, dan mucha arabinosa. Calentadas con ácido clorhídrico diluído, estas gomas forman furfurol a causa de la presencia de la arabana.

Se pueden aislar las materias gomosas propiamente dichas dializando sus disoluciones filtradas y aciduladas con ácido acético. Luego se somete a la precipitación fraccio-

nada con alcohol acidulado con ácido acético el líquido que queda en el dializador. La goma tragacanto, que exuda de diferentes *Astragalus*, cede al agua una escasa cantidad de substancia (arabana); la parte insoluble ha recibido el nombre de *basorina*. Esta última existe también en la goma del país (goma de cerezo, de melocotonero).

Citemos también, entre las materias gomosas, la *goma de madera* o *xilana*, que se encuentra en abundancia en los tejidos lignificados de todos los vegetales, de donde puede extraerse por la acción de una solución de sosa diluída, que luego se precipita mediante el alcohol. Casi insoluble en el agua fría, la xilana se disuelve en el agua caliente. Por hidrolisis sulfúrica produce xilosa y da furfurol cuando se calienta con ácido clorhídrico diluído.

Las gomas se forman por metamorfosis química de todos los tejidos. Los elementos celulares que van a transformarse en gomas engruesan primero sus membranas a expensas del contenido celular. La goma tragacanto presenta la estructura de los tejidos de que procede; las paredes celulares están fuertemente hinchadas, y se ven en su interior muchos granos de fécula aun no transformados. La celulosa de la membrana parece ser la substancia generatriz de la goma. Según Wiesner, todas las gomas contienen una diastasa específica que es la causa inmediata de la transformación de la celulosa en goma.

Mucílagos. — Son mezclas de principios pécticos, que contienen a veces celulosa, capaces de hincharse en el agua y comunicar a ésta consistencia gelatinosa. Se forman en la cara interna de la membrana celulósica, como en el caso de la semilla de linaza; a veces se forman en la superficie libre de la planta, alrededor de la membrana celulósica (algas). La *gelosa*, tan usada en la práctica bacteriológica como medio de cultivo, es un mucílago extraído de un alga de la clase de las *florídeas*.

Principios pécticos.—El zumo de la mayoría de los frutos, así como el de los tallos, de las hojas y de muchas

raíces, contiene, junto con cuerpos celulósicos, una materia insoluble en el agua, el alcohol y el éter, imposible de separar de la celulosa. Esta substancia, llamada *pectosa*, de la que ya hemos dicho algo al hablar de la pectasa (pág. 134), presenta la propiedad característica de formar, por la acción simultánea de los ácidos y del calor, una materia soluble en el agua, a la cual comunica cierto grado de viscosidad. Este cuerpo ha sido llamado *pectina*. Hemos visto que la transformación de la pectosa en pectina, durante la maduración del fruto verde, era probablemente debida a la presencia de un fermento soluble, no aislado todavía. La pectina, del mismo modo que las gomas y los mucílagos, forma con el agua soluciones viscosas; oxidada con el ácido nítrico produce ácido múcico, pero se diferencia de las gomas y de los mucílagos por la propiedad que tiene de coagularse por la acción del agua de barita o de cal.

La pectina se extrae del zumo de los frutos maduros. Se filtra el zumo y se elimina la cal precipitándola con el ácido oxálico; luego se separan las materias albuminoides mediante el tanino, y se vierte alcohol en el líquido límpido. Se forman largos filamentos de pectina, se lavan con alcohol, se disuelven en el agua y se precipita nuevamente el líquido con alcohol (Frémy). Estas últimas operaciones deben repetirse tres o cuatro veces.

Junto con la pectina se encuentra siempre un fermento soluble que ya hemos estudiado: la *pectasa*. Por la acción de este fermento la pectina se transformaría en un cuerpo insoluble y gelatinoso, el *ácido péctico*.

Frémy creía que la pectasa existía en dos formas, una soluble, en el zumo de las zanahorias, por ejemplo, y otra insoluble, en el zumo de las manzanas. G. Bertrand y Mallèvre (1895), haciendo actuar el zumo de las zanahorias sobre una solución de pectina demostraron que no se precipita ácido péctico, sino *pectato cálcico*. En efecto, este precipitado es insoluble en los líquidos alcalinos débiles y sólo se disuelve en ellos cuando se ha puesto en maceración en ácido clorhídrico diluído; entonces este último contiene cal. La cal interviene, pues, en la fermentación péctica.

He aquí algunos pormenores respecto de este asunto.

Para poner de manifiesto el papel de la cal en el fenómeno anterior se prepara con zanahorias, según se dijo ya antes (pág. 135), pectasa exenta de cal. Para preparar pectina se emplean los residuos de las zanahorias de que se ha extraído la pectasa. Para ello se deslíen estos residuos en alcohol, se hierve la mezcla un cuarto de

hora y se filtra en caliente. El residuo, descolorado, se macera en agua adicionada de un poco de ácido clorhídrico. Al cabo de veinticuatro horas se exprime, se filtra y se precipita el líquido con alcohol. Se recogen en un lienzo los grumos que se forman, y se elimina la cal por loción en frío con alcohol de 50° que contenga 2 por 100 de ácido clorhídrico. Se acaba la purificación por una serie de disoluciones en agua y precipitaciones con alcohol. Se emplea, para los ensayos, una solución de pectina al 2 por 100, en presencia de agua saturada de cloroformo (a fin de evitar la acción de los microorganismos).

Se observa entonces que una solución acuosa de pectina permanece indefinidamente líquida cuando se mezcla con el zumo *descalcificado* de zanahorias (pectasa): la menor adición de una sal cálcica soluble determina, al cabo de algún tiempo, la formación de un precipitado de *pectato cálcico.*

Se añade al zumo descalcificado de las zanahorias un poco de cloruro cálcico; se divide el líquido en dos partes, y se calienta una de ellas a 100° para destruir la acción de la pectasa. Luego se añade a cada una de las dos partes una solución de pectina. La mezcla que contiene pectasa calentada permanece líquida; la otra da un precipitado de pectato cálcico. Este precipitado se forma tanto más pronto cuanto mayor es la proporción de la sal cálcica empleada. Por lo tanto, es necesaria la acción simultánea de la cal y de la pectasa para determinar la fermentación péctica. La barita, la estronciana, y aun la magnesia, si bien que en menor grado, actúan como la cal.

Además, el medio en que se realiza esta fermentación debe ser sensiblemente *neutro*. En efecto, el retardo en la coagulación es tanto mayor cuanto más ácido se añada artificialmente: se comprueba esto adicionando cantidades crecientes de ácido clorhídrico a la mezcla de *pectasa, pectina* y *sal cálcica.* Así, aun en presencia de una sal cálcica, la acción de la pectasa es retardada, llegando hasta a anularse, si el medio es ácido. Esta influencia del ácido puede ser compensada por el empleo de una mayor proporción de sal cálcica o de fermento. Así se explica cómo algunos zumos vegetales fuertemente ácidos (cerezas, grosellas) producen sin embargo la coagulación péctica: de donde se deduce la necesidad de cierto equilibrio entre las cantidades de fermento, sal cálcica y ácido. La influencia de los ácidos en la fermentación péctica había escapado a Frémy, quien había negado la presencia de la pectasa en el zumo de los frutos ácidos. Él admitía la existencia de una *pectasa insoluble* que acompañaba a la parte soluble de las pulpas, y creía explicar así por qué el zumo de los frutos ácidos (manzanas verdes) no actúa sobre la pectina, mientras que la pulpa del fruto gelatiniza la solución de pectina al cabo de algún tiempo.

Según Bertrand y Mallèvre, se puede explicar de muy distinto modo la diferencia entre la acción del zumo y la de la pulpa de los

frutos ácidos sobre la solución de pectina, sin acudir a la hipótesis de una pectasa insoluble, recordando que las diastasas se fijan enérgicamente en los cuerpos insolubles. En el zumo de los frutos ácidos existe pectasa: basta neutralizar los ácidos, a lo menos parcialmente, con una base diluída, para que determinen la coagulación de la pectina. Si la pulpa de estos frutos ácidos actúa sobre la pectina es, pues, porque la cantidad de pectasa que contiene no está ya anulada por la presencia de ácidos, los cuales han desaparecido en su mayor parte con el jugo celular cuando se ha prensado la pulpa.

La pectina no es una substancia única. En realidad, existen muchas pectinas que se pueden distinguir entre sí por el valor de su poder rotatorio. Es posible que, en un mismo vegetal, puedan hallarse diferentes pectinas en órganos distintos (Bourquelot).

Además, dado que muy a menudo existen pectinas en los tejidos vegetales y que estas pectinas a veces desaparecen, hay motivo para buscar si existe algún fermento soluble capaz de hidrolizarlas. La cebada germinada contiene un fermento de esta naturaleza. No encontrándose en la saliva ni en el líquido de cultivo del *Aspergillus niger*, es natural pensar que se trata de un nuevo fermento, que acompaña a la amilasa en la cebada germinada. Bourquelot da a este fermento el nombre de *pectinasa*. Cuando se añade pectinasa (en forma de maceración de malta) a una solución acuosa de pectina y se deja en contacto con ella durante un tiempo suficiente, la solución deja de coagularse por la acción de la *pectasa:* se forma entonces cierta cantidad de azúcar reductor. Si, por otra parte, se coagula primero la solución de pectina con la pectasa y se trata luego el coágulo por la pectinasa, este coágulo poco a poco desaparece y, como en el caso anterior, se forma un azúcar reductor.

Por último, se pueden añadir, a la vez, a la solución de pectina, pectinasa y pectasa. Cuando el segundo fermento está en mayor proporción que el primero, habrá por de pronto coagulación, y luego liquidación. Si ocurre lo inverso, no se observará coagulación.

Constituyentes de las materias pécticas.—Las materias pécticas parecen estar próximas a los hidratos de carbono; de todos modos, según los autores antiguos, su análisis indicaría un exceso de oxígeno respecto del hidrógeno con relación a los elementos del agua. Análisis recientes tienden a hacer creer que estas materias tienen aproximadamente la misma composición que los hidratos de carbono. Parece confirmarlo el hecho de que, por hidrolisis mediante ácidos diluídos y calientes, las substancias pécticas se convierten en *azúcares reductores*. Contienen *hemicelulosas* (arabana, galactana); por oxidación nítrica dan ácido múcico. Los azú-

cares reductores obtenidos por la hidrolisis son la *arabinosa*, a veces la *xilosa*, y muy a menudo la *galactosa*.

De todas maneras, no se puede afirmar que los cuerpos pécticos estén *únicamente* formados por hemicelulosas, porque parecen poseer las propiedades de los ácidos débiles.

IV

PRINCIPIOS INMEDIATOS QUE NO TIENEN LA COMPOSICIÓN DE LOS HIDRATOS DE CARBONO

Materias grasas. — La glicerina, alcohol triatómico, puede, eterificándose, formar gran número de éteres compuestos. Si se eterifica una sola molécula de ácido monobásico, se obtiene un monoéter, como la *monoestearina*, por ejemplo:

$$C^3H^5(OH)^3 + C^{18}H^{36}O^2 = C^3H^5(OH)^2(O.C^{18}H^{35}O^2) + H^2O.$$

Si se eterifican 2 moléculas de ácido, se obtiene la *diestearina* $C^3H^5(OH)(O.C^{18}H^{35}O)^2$; si se eterifican 3 moléculas de ácido, se obtiene la *triestearina* $C^3H^5(O.C^{18}H^{35}O)^3$. Pueden ser eterificados en la misma molécula dos o tres ácidos diferentes, y se obtienen entonces éteres complejos, como la *oleomargarostearina*.

Los cuerpos grasos contenidos en los vegetales son *mezclas de éteres de la glicerina*. Los ácidos eterificados en estas condiciones son muchos: citemos, entre los ácidos saturados, los ácidos propiónico, butírico, isovaleriánico, caprílico, caproico, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, aráquico; entre los ácidos no saturados, los ácidos tíglico, hipogeico, oleico, erúcico, y por último el ácido ricinoleico.

Las materias grasas del reino vegetal son líquidas (aceites) o sólidas (mantecas). Las primeras se solidifican a 0° o a temperaturas inferiores; las segundas son más o menos duras y no funden antes de 30°. En conjunto, las grasas son combinaciones sobre todo ricas en carbono. Muy

poco solubles en el alcohol frío (excepto los aceites de ricino y de crotón) y solubles en el alcohol caliente, del cual se separan por enfriamiento, se disuelven fácilmente en el éter, la bencina y el sulfuro de carbono. Son más ligeras que el agua.

Las grasas están abundantemente esparcidas en el reino vegetal; representan reservas nutritivas que serán utilizadas más tarde (germinación de las semillas oleaginosas) como la fécula. Se encuentran raramente en los órganos subterráneos (tubérculos del *Cyperus esculentus)*. Se hallan en pequeña cantidad en los tejidos de las fanerógamas y de las criptógamas; abundan en multitud de semillas y en algunos frutos. Los vegetales de los trópicos contienen mucha más grasa que los que viven en los climas templados.

Las grasas se forman en la misma substancia de la red protoplasmática; en algunos casos parece que la materia grasa sea elaborada por corpúsculos de materia albuminoide: la génesis de la materia grasa debería buscarse, pues, en el desdoblamiento de los albuminoides.

Ordinariamente las grasas residen en el interior de la célula; se hallan más raramente en la misma pared celular. A veces salen del sitio donde se han formado y recubren a ciertos órganos de una capa más o menos gruesa; tal ocurre en las semillas de la *Stillingia sebifera* (árbol del sebo de la China, euforbiácea). Estas semillas, además del aceite fijo que contienen, están recubiertas de una materia sebácea blanca.

En la célula las grasas van acompañadas de granos de fécula, aleurona, clorofila, resina y materias colorantes. Con frecuencia están mezcladas con ácidos grasos, visibles mediante el microscopio en forma de cristales; no son, pues, glicéridos puros. Muchas grasas contienen *colesterina* (aceite de olivas), otras *lecitina* (materias grasas de las leguminosas).

Muchas grasas tienen olor agradable: manteca de nuez moscada, manteca de cacao, aceite de palma. Su sabor es dulzaino, a veces amargo; su color es variable, amarillo, verdoso; muchas son incoloras o blanquecinas.

¿Cuál es el origen de las grasas? Parece bien demostrado que no proceden directamente de la función clorofiliana. En el momento de la maduración de las semillas oleaginosas, se observa que los azúcares disminuyen a medida que se acumula la materia grasa; recíprocamente, durante la germinación, las grasas desaparecen a la vez que aparecen los hidratos de carbono. Este doble mecanismo de formación y de destrucción de las grasas es muy obscuro: volveremos a tratar de él a propósito de la germinación y de la maduración de las semillas.

Sin embargo, según Dunlap y Gilbert (1911), se puede realizar la síntesis de las grasas por medio de ciertas enzimas contenidas en las semillas, mezclando, por ejemplo, ácido oleico y glicerina con semillas de linaza o de ricino desgrasadas. Al cabo de algunos días, hay disminución de acidez y, por consiguiente, eterificación.

Las grasas no son utilizadas como materia de reserva más que después de haber sufrido una eterificación que es el resultado de la acción de enzimas especiales, según hemos visto anteriormente.

Ceras.—Se da el nombre de *ceras vegetales* a substancias que, por su aspecto exterior y su consistencia, se parecen a la cera de abejas. Las ceras se encuentran ordinariamente en forma de barniz sobre las hojas, tallos y frutos: la membrana epidérmica está incrustada de ellas. Visible al microscopio, la capa cérea a veces puede ser observada a simple vista *(Klopstockia cerifera, Ceroxylon andicola;* familia de las palmeras). A veces la cera se halla en el interior de las células como las mismas grasas (semillas de plantas del género *Rhus*, frutos de la *Myristica ocuba*, zumo del *Ficus ceriflua)*. Las ceras son *éteres compuestos de un ácido graso y de alcoholes de peso molecular elevado* (alcohol melísico $C^{30}H^{62}O$, alcohol cetílico $C^{16}H^{34}O$). Los ácidos grasos que más a menudo se hallan son los ácidos palmítico, cerótico, mirístico y oleico. A veces existe, mezclada con materias céreas, cierta cantidad de estos ácidos en estado de libertad o combinados con la glicerina.

La cera de diversas coníferas no es un solo principio

inmediato. Está formada por mezclas que no contienen compuestos análogos a la glicerina o a los alcoholes etílico, melísico, etc., pero que están constituídas por la asociación de moléculas de ácidos-alcoholes que se eterifican entre sí. Uno de estos ácidos corresponde a la fórmula de un *ácido oxipalmítico* ($C^{16}H^{32}O^{3}$), otro a la fórmula de un *ácido oxiláurico* $C^{12}H^{24}O^{3}$ (Bougault y Bourdier, 1908).

Esencias.—Se da el nombre de *esencias* o de *aceites esenciales* a productos de excreción volátiles, generalmente dotados de olor agradable, insolubles en el agua, solubles en el alcohol, el éter y el sulfuro de carbono, que se encuentran en las hojas, los frutos y las flores de gran número de plantas. La extracción de las esencias se hace por destilación con agua o acudiendo a disolventes apropiados (1).

Las esencias son *mezclas de hidrocarburos* (terpenos o canfenos $C^{10}H^{16}$) con *aldehidos* (citral o geranial $C^{10}H^{16}O$, citronelal $C^{10}H^{18}O$), *acetonas* (pulegona $C^{10}H^{16}O$, mentona $C^{10}H^{18}O$). Estas materias van acompañadas de los alcoholes (mentol, citronelol, fencol, geraniol, linalol) correspondientes. Estos pueden estar parcialmente eterificados por el ácido acético, el ácido benzoico, el ácido cinámico. A veces las esencias están formadas sobre todo por aldehidos o acetonas aromáticas (aldehidos salicílico, cumínico, cinámico, anísico), o por fenoles (chavicol, timol, carvacrol).

Al lado de las esencias deben situarse las *resinas,* que son productos de oxidación de ellas. Estas substancias son amorfas, insolubles en el agua, solubles en el alcohol y el éter. El tipo de las resinas es la *trementina,* que exuda de la corteza de gran número de plantas de la familia de las coníferas. La trementina se solidifica paulatinamente. En el comercio recibe el nombre de *galipodio.* Esta resina es una mezcla que contiene un hidrocarburo (líquido), el *terebenteno* $C^{10}H^{16}$, diversos ácidos, materias gomosas, azúcares, fécula. Cuando se destila la trementina en una corriente de vapor de agua, deja un residuo sólido: *arcansón* o *colofonia.* A causa de su consistencia las resinas son llamadas a veces *oleorresinas.*

Los *bálsamos* son substancias líquidas o sólidas que contienen ácido benzoico o ácido cinámico libres, o los dos a la

(1) Las esencias, llamadas también aceites volátiles, no tienen caracteres químicos comunes. Algunas se extraen por simples medios mecánicos (limón) y otras mediante disolventes apropiados (violeta), si bien que la generalidad se obtienen por destilación con el vapor de agua.—C. B.

vez. Los bálsamos contienen cierta cantidad de esencias. Se resinifican al aire libre.

Las *gomorresinas*, producidas por ciertas umbelíferas, leguminosas, terebintáceas, están formadas por mezclas de resina y gomas.

Los *alcanfores* existen en muchas esencias naturales. Se deben considerar como las acetonas de los *canfoles* (borneol o alcohol canfólico $C^{10}H^{18}O$). Su fórmula es $C^{10}H^{16}O$. El alcanfor del *Laurus camphora* (laurácea) se extrae de las ramas y de las raíces del árbol por sublimación; es dextrógiro. El alcanfor de la *manzanilla* es levógiro.

El *caucho* es una mezcla de hidrocarburos; es un zumo lechoso en emulsión, que se encuentra en el látex de ciertas plantas de los países ecuatoriales. Procede principalmente de la *Castilloa elastica* (euforbiácea), de la *Hevea guianensis,* así como de diversas especies del género *Landolphia* (apocinácea). El caucho en bruto contiene como impurezas materias grasas, substancias nitrogenadas, fécula, azúcares. Los hidrocarburos de que está formado son mezclas de hidrocarburos canfénicos $(C^{10}O^{16})^n$ de peso molecular elevado.

Haciendo actuar el agua sobre el caucho de Pará en bruto, se extrae una peroxidiastasa muy activa que contiene hierro, pero inactiva en ausencia del agua oxigenada. El látex de la *Funtumia elastica* (apocinácea) y el de la *Hevea brasiliensis* contienen una oxidasa. El caucho podría ser una substancia de reserva que, por la acción de las oxidasas, se transformaría en materias más sencillas a expensas de las cuales se ha formado esta substancia. La existencia de un grupo pentósico, unido a la oxidasa en el látex del *Funtumia,* corrobora esta opinión (Spence, 1908).

La *gutapercha* es una substancia que se aproxima por su origen al caucho. Es producida por la *Isonandra gutta* (sapotácea). Contiene un hidrocarburo $(C^{10}H^{16})^n$, una materia oxigenada resinosa *(albano)* y una resina amarillenta *(flavilo).*

Las esencias se hallan en la célula vegetal en forma de

gotitas, que permanecen a veces en las células en que se han formado (pelos secretores de las labiadas, pétalos florales). A veces también salen de las células y se reúnen en canales especiales, *canales secretores* (coníferas), o en depósitos llamados *secretores* (limón).

La génesis de la esencia es debida a una reabsorción de elementos celulares (limón, ruda) o, como en el caso de algunas esencias florales, a la descomposición de la clorofila mientras se desarrolla la flor.

Según Charabot (1904), que ha hecho largos estudios sobre la génesis de los compuestos terpénicos en los vegetales, el examen de la composición de las esencias enseña que las mismas combinaciones terpénicas oxigenadas van acompañadas de los mismos hidrocarburos. Siendo uno de los principios oxigenados un alcohol, tal como el linalol $C^{10}H^{18}O$, éste difiere por los elementos del agua de uno de los hidrocarburos que le acompañan, el limoneno $C^{10}H^{16}$, y lo mismo ocurre con el borneol $C^{10}H^{18}O$ y el canfeno $C^{10}H^{16}$. Siendo uno de los componentes terpénicos oxigenados un aldehido o una acetona, se encuentra a su lado un hidrocarburo que sólo difiere por 1 átomo de oxígeno: citral $C^{10}H^{16}O$ y limoneno $C^{10}H^{16}$. Por último, la fórmula de un principio oxigenado puede deducirse de la de un hidrocarburo, que le acompaña constantemente en las esencias, por la substitución de 1 átomo de oxígeno a 2 átomos de hidrógeno: carvona $C^{10}H^{14}O$ y limoneno $C^{10}H^{16}$. Así, el mismo vegetal contiene un conjunto de compuestos que derivan fácilmente unos de otros.

En contacto con las partes verdes de la planta, el linalol (alcohol terpénico) forma, con los ácidos libres, éteres compuestos y, por otra parte, se deshidrata formando terpenos. Esto es lo que ocurre durante la maduración de los frutos del *Citrus bergamia* y del *C. bigaradia*.

Además, en los órganos que respiran activamente (flores, frutos), y en los cuales esta función predomina sobre la función de asimilación, los alcoholes y sus éteres se oxidan y forman los aldehidos o las acetonas correspondientes: el linalol engendra así un aldehido, el *citral*.

Según Charabot y Hébert, las deshidrataciones que son características de los medios asimiladores son favorecidas por las causas que activan la transpiración, es decir, por las que tienden a disminuir la proporción de agua contenida en la planta. Estos autores consideran la formación de los éteres como resultante de la acción directa de los ácidos sobre los alcoholes, acción favorecida por la presencia de un agente particular de deshidratación que posee los caracteres de una diastasa.

La formación de la esencia es activa hasta el momento de la

florescencia. Cuando la flor cumple sus funciones, desaparece una parte importante de la esencia: esta materia es consumida mientras se efectúa el trabajo de fecundación. Se puede decir, pues, que las esencias son substancias que toman parte en el gasto que hace el organismo vegetal para asegurar la reproducción de la especie (Charabot y Laloue). A veces las esencias no existen *en estado libre* en la planta; se hallan en ella en forma de combinaciones complejas con otras substancias, combinaciones desdoblables en contacto con diastasas especiales; tal es el caso de la esencia de almendras amargas (véase más adelante: *Glucósidos*).

Según Giglioli (1912), el papel fisiológico que desempeñarían las esencias sería de carácter osmótico. Estas substancias serían capaces de provocar y de acelerar el movimiento del agua al través de la pared celular y, por consiguiente, el transporte de las enzimas y de los materiales solubles.

Vasculosa.—Lignina.—Frémy llamaba *vasculosa* a una substancia muy esparcida en todo el organismo vegetal, que acompaña a la celulosa y constituye la mayor parte de los vasos y de las tráqueas. Esta substancia abunda sobre todo en los elementos vegetales resistentes y duros. La vasculosa no es un hidrato de carbono. Su proporción de carbono varía de 59 a 60 por 100. Frémy extrae esta substancia de la medula de saúco: se lixivia la medula con disolventes neutros, álcalis diluídos y ácido clorhídrico diluído e hirviente; finalmente se trata el residuo con el reactivo de Schweitzer repetidas veces. La substancia que queda después de todos estos tratamientos es la vasculosa. Esta no es alterada por los ácidos calientes y diluídos, ni por los álcalis; el ácido sulfúrico concentrado la colorea deshidratándola.

La paja contiene vasculosa, pero esta vasculosa es más atacable que la de la madera; en efecto, se disuelve en las lejías alcalinas a 100°.

La vasculosa no representa probablemente una especie química definida. Tal vez sea idéntica, o a lo menos próxima, a la *lignina* de Lange, materia hidrocarbonada que contiene 61 por 100 de carbono.

La lignina es llamada, a veces, *lignona* o *lignol* (materia incrustante).

G. Bertrand ha propuesto aislar y determinar cuantitativamente

los diversos productos contenidos en los tejidos lignificados de la manera siguiente: Se lixivia, por ejemplo, la paja con agua y alcohol y se deja macerar durante dos días en una solución diluída de sosa al 2 por 100, al abrigo del aire. Se filtra este líquido alcalino por un lienzo y se le adiciona su volumen de alcohol: el precipitado que se obtiene es *goma de madera* (xilana), de donde se obtiene por hidrolisis xilosa. La solución alcalina, desposeída de xilana, debe su coloración amarilla a una substancia que se aísla neutralizando la solución alcalina alcohólica con ácido sulfúrico. Se evapora, se trata el residuo con agua para separar el sulfato sódico, y se trata el nuevo residuo con alcohol. Se filtra y se precipita el líquido alcohólico añadiéndole agua: se precipita un polvo amarillo, la *lignina*. El residuo, que no se ha disuelto en la sosa en frío, está formado por una mezcla de celulosa y vasculosa.

Se puede operar también, como comprobación, del modo siguiente. Se trata la paja finamente dividida con el reactivo de Schweitzer, y luego se filtra, al cabo de algunos días de contacto, por lana de vidrio, que retiene las vasculosa insoluble. El líquido filtrado, adicionado de un ácido, forma un precipitado, mezcla de celulosa y lignina. Queda una solución de la que se precipita la xilana por adición de alcohol. Se trata la mezcla de celulosa y lignina con agua amoniacal: únicamente se disuelve la lignina; se precipita ésta mediante un ácido. Este procedimiento de análisis es aplicable a los tejidos de gran número de plantas.

Taninos.—Los taninos están extremadamente esparcidos en el reino vegetal; se encuentran sobre todo en las cortezas y en las hojas. Sus propiedades generales son las siguientes. Son substancias amorfas, solubles en el agua, de reacción ligeramente ácida, astringentes, que se fijan al tejido dérmico de la piel, haciendo a ésta imputrescible. Con la gelatina, los alcaloides y el emético forman compuestos poco solubles; toman color negro, violeta, azul o verde con las sales férricas; se oxidan muy fácilmente en contacto con el aire en presencia de las bases con las cuales se unen débilmente (A. Gautier). En realidad, el grupo de los taninos es muy heterogéneo.

El papel fisiológico de los taninos es obscuro, porque la denominación de *tanino* comprende a una multitud de substancias. La mejor prueba de la complicación que presenta su estudio son los muy diversos nombres que han sido dados a estas substancias, según la planta de donde se las ha extraído: *ácido galotánico, cuercitánico, pinitánico, morintánico,* etc.

El tanino de la nuez de agallas es un anhídrido del *ácido gálico* (ácido digálico). Se puede suponer que deriva de la unión de un trioxifenol (tal como la floroglucina) con el ácido carbónico:

$$\underset{\text{Floroglucina}}{C^6H^6O^3} + CO^2 = \underset{\text{Ác. gálico}}{C^7H^6O^5} \qquad 2\,C^7H^6O^5 - H^2O = \underset{\text{Tanino}}{C^{14}H^{10}O^5}.$$

Según Maquenne, la inosita de las hojas del nogal (página 156) forma fácilmente por oxidación derivados aromáticos. Se puede suponer que esta inosita, que se origina en la función clorofiliana, sufriría una deshidratación:

$$C^6H^{12}O^6 = C^6H^6O^0 + 3\,H^2O$$

y engendraría así un trioxifenol.

Los datos relativos al papel del tanino en la planta son bastante contradictorios. La mayor parte de los autores admiten que esta substancia es un *desecho* del organismo vegetal.

En los frutos carnosos azucarados, el tanino se transformaría en azúcar, según Buignet; según Chatin y Gerber, esta materia se destruiría por oxidación completa sin formarse hidratos de carbono. Cuando caen las hojas, el tanino no es reabsorbido, a lo menos completamente; las bellotas del roble en germinación lo conservan y no lo aprovechan para la formación de nuevos órganos: no es, pues, por lo menos aquí, una materia de reserva.

Según Oser, el tanino del roble, o las substancias reductoras determinadas como tales, aumenta durante el período de actividad fisiológica de la planta y disminuye durante el invierno; el tanino serviría, pues, de *alimento respiratorio*, como el aceite o la fécula.

Existiría igualmente una relación entre la presencia del tanino y la de los hidratos de carbono; el tanino tendría cierta importancia en la migración de éstos. Esta migración se efectuaría en forma de un glucósido tánico (Möller).

El tanino, a lo menos en la mayoría de las plantas, no parece servir para la formación de órganos nuevos más que cuando

el aceite o la fécula faltan más o menos por completo. Los tallos de ciertos árboles *(Paulownia, Ribes, Pinus)* contienen en invierno gran cantidad de tanino, que desaparece en la primavera. El tanino puede proceder de la celulosa o de la fécula, porque, en las yemas y en las hojas muy jóvenes de alerce, el tanino aparece cuando la celulosa se altera. Inversamente, el tanino podría transformarse en fécula, porque, al final del otoño, en el momento en que se suspende la vegetación, se observa, en el arce, el sauce y el abedul, que el tanino disminuye y la fécula llena los tejidos (Schell).

Algunos autores (Kraus, Westermaier) parecen admitir que la luz ejerce influencia en la formación del tanino: el aumento de la iluminación va seguido del aumento de esta substancia, tanto en las células de clorofila como en las que no la contienen. Señalemos, por último, la opinión de los que creen que las resinas y las esencias provendrían de una modificación de los taninos.

El tanino es un excelente alimento para muchos mohos, algunos de los cuales lo desdoblan con formación de ácido gálico (véase más adelante).

Desde el punto de vista químico se pueden considerar los taninos como *derivados carboxílicos de los hidrocarburos bencénicos.* La hidrolisis de todos los taninos produce, efectivamente, ya fenoles (floroglucina), acompañados de ácidos aromáticos (ácido pirocatéquico, ácido gálico), ya solamente ácidos aromáticos: tal es el caso del tanino de las agallas que, por fijación de 1 molécula de agua, da 2 moléculas de ácido gálico. Algunos taninos (tanino del café, ácido cafetánico; tanino de la encina de América o corteza del *Quercus nigra digitata)* dan, por hidratación, hidratos de carbono o alcoholes derivados de ellos.

$$\underset{\text{Cuercitrona}}{C^{21}H^{22}O^{12}} + H^2O = \underset{\text{Cuercitina}}{C^{15}H^{10}O^7} + \underset{\text{Isodulcita}}{C^6H^{14}O^6}$$

$$\underset{\text{Ácido cafetánico}}{C^{14}H^{18}O^8} + 2\,H^2O = \underset{\text{Ácido cafeico}}{C^9H^8O^4} + \underset{\text{Manita}}{C^6H^{14}O^6}.$$

El tanino de las agallas se transforma en ácido gálico, no sólo por ebullición, sino también por la acción de algunas mucedíneas *(Aspergillus niger, Penicillium glaucum),* que producen una hidrolisis lenta a la temperatura ordinaria (Van Tieghem). Estas mucedíneas segregan una diastasa especial, la *tanasa,* a la cual es debida

la hidrolisis del tanino (Fernbach, Pottevin, 1900); ha sido encontrada también en las hojas de *zumaque*.

El tanino de las agallas y los *taninos puros al éter* que se encuentran en el comercio dan siempre por hidrolisis con la tanasa, además de ácido gálico, una materia azucarada que es glucosa. Antes se consideraba a todos los taninos como *glucósidos*, porque la mayor parte de ellos daban, por desdoblamiento, glucosa junto con productos derivados de la serie aromática.

Conviene mencionar aquí el resultado de algunas recientes inveseigaciones sobre la constitución del tanino. Hemos dicho antes que rl tanino era un ácido digálico. Sin embargo, este ácido es inactivo tespecto de la luz polarizada, mientras que todos los taninos son dextrógiros, más o menos ciertamente, según su origen y su grado de pureza. Según Nierenstein, el tanino de las agallas sería una mezcla de ácido digálico y un producto de hidrogenación del mismo, el *dihidrodigálico*, que este autor llama *leucotanino*. Esta última substancia contendría 1 átomo de carbono asimétrico, lo que explicaría su actividad óptica.

Sin embargo, esta opinión dista mucho de ser la generalmente adoptada. E. Fischer, y algunos de sus discípulos, consideran, a pesar de todo, al tanino como un glucósido. En efecto, cuidadosamente purificado, el tanino da por hidrolisis sulfúrica de 7 a 8 por 100 de glucosa. De todas maneras esta cantidad de azúcar sería muy inferior a la que debería dar un glucósido ordinario del ácido gálico o del ácido digálico. El tanino sería, pues, un *glucósido especial* en el cual la glucosa parece combinarse con uno de los dos ácidos precedentes a causa de la eterificación de sus cinco hidroxilos. La hipótesis de una *pentadigalilglucosa* concuerda bastante bien con las observaciones hechas sobre la actividad óptica del tanino, su peso molecular, su débil acidez, los resultados de su análisis y la naturaleza de sus productos de hidrolisis. Fischer y Freudenberg (1912) han podido obtener por síntesis una *pentagalilglucosa* que, bajo todos conceptos, presenta numerosas analogías con el tanino natural.

Localizados a veces en células especiales, los taninos se encuentran generalmente en casi todas las células del parénquima. Gracias a la presencia de ácidos en el jugo celular, el tanino permanece en disolución al lado de las materias albuminoides sin precipitarlas.

Glucósidos. — Se da este nombre a principios inmediatos, muy frecuentes en una multitud de familias vegetales, que, por desdoblamiento, sometidos a la acción del agua o de los ácidos diluídos a 100°, o a la acción de diastasas especiales, producen una *materia azucarada* (frecuentemente la glucosa), junto con *otras substancias que por lo gene-*

ral corresponden a la serie aromática. Existen glucósidos ternarios; también existen glucósidos nitrogenados y glucósidos nitrogenados y sulfurados.

El papel fisiológico de los glucósidos es poco conocido, y lo mismo ocurre con el mecanismo de su formación. Se ha querido explicar la presencia de algunos de ellos por una polimerización del aldehido metílico. Pero, probablemente no hay aquí más que una coincidencia de fórmulas.

¿Desempeñan los glucósidos el papel de materias de reserva? En los órganos vegetales en que se hallan se encuentran casi siempre enzimas especiales, capaces de provocar su desdoblamiento con producción de una materia azucarada y una substancia aromática, a menudo tóxica, e inutilizable por la planta.

Artificialmente se pueden transformar, en el cuerpo de la planta, ciertas substancias aromáticas en glucósidos. Inyectando saligenina en tallos de maíz, se ha podido extraer cierta cantidad de salicina en la época de la cosecha. Las substancias activas (enzimas) contenidas en la planta, aun reducida al estado de papilla, son capaces, o bien de desdoblar los glucósidos en sus componentes (adición de salicina, convertida en saligenina) o, inversamente, de transformar en salicina una parte de la saligenina añadida a esta papilla (Ciamician y Ravenna, 1909).

Las materias azucaradas procedentes del desdoblamiento de los glucósidos habían recibido antes nombres especiales. Se ha visto que estas materias, o bien eran substancias impuras, o realmente estaban formadas por mezclas de azúcares.

La glucosa es el azúcar que más a menudo se encuentra en el desdoblamiento de los glucósidos por los fermentos o por los ácidos diluídos; se encuentran también la *ramnosa* o *isodulcita*, que es una metilpentosa $CH^3(CHOH)^4CHO$, la *xilosa* acompañada de glucosa, más raramente la *galactosa* o la *manosa*, a veces un anhídrido de la glucosa, la *levoglucosana* $C^6H^{10}O^5$, cuando se hidroliza, por ejemplo, mediante la barita, la coniferina, la salicina, la piceína. También se han dividido los glucósidos en *glucósidos propiamente dichos, ramnósidos, galactósidos,* etc.

El desdoblamiento de algunos glucósidos (amigdalina) da 2 moléculas de glucosa; por esta razón a veces se ha considerado que este glucósido contenía maltosa, es decir, un *disacárido*.

Amigdalina. — Liebig y Wöhler demostraron, en 1837, que la *amigdalina*, substancia particular contenida en las almendras amargas y aislada poco antes por Robiquet y Boutron, se descompone en presencia del agua formando esencia de almendras amargas (aldehido benzoico), glucosa y ácido cianhídrico; pero, que esta descomposición no se efectuaba más que en presencia de un fermento especial, la *emulsina* o *sinaptasa*. Ésta se encuentra también en las almendras dulces, las cuales no contienen amigdalina: se halla también en las hojas del laurel-cerezo, en muchas fanerógamas, en muchos hongos parásitos de los árboles (Bourquelot) y en algunos mohos. La emulsina desdobla un gran número de glucósidos. Según Bourquelot y Hérissey (1903), contendría cuatro enzimas distintas.

La descomposición de la amigdalina no se efectúa en la planta viva: se deduce de esto que el fermento y el glucósido están contenidos en células distintas y no pueden reaccionar entre sí, a no ser que, por una acción mecánica o disolvente, se pongan en contacto. Guignard ha señalado estas dos localizaciones.

La emulsina es soluble en el agua y puede conservarse largo tiempo cuando está seca. Según Bourquelot, la emulsina puede servir fácilmente para la investigación de los glucósidos en un vegetal o en una parte de un vegetal, por el desdoblamiento, con formación de glucosa, que esta enzima hace sufrir al glucósido. Este procedimiento ha permitido demostrar que los glucósidos son más frecuentes en el reino vegetal de lo que generalmente se cree.

El desdoblamiento de la amigdalina se efectúa según la ecuación siguiente:

$$C^{20}H^{27}NO^{11} + 2\,H^2O = 2\,C^6H^{12}O^6 + C^7H^6O + CNH.$$

La amigdalina puede ser considerada como resultante de la

unión del nitrilo del ácido amigdálico o fenilglicólico izquierdo $C^6H^5CH(OH)CN$ (benzaldehidocianhidrina) con un disacárido análogo a la maltosa. La fórmula anterior de la reacción indica los productos últimos de la transformación enzimática, pero exige ciertamente la presencia de dos diastasas en la emulsina: en realidad, se efectúa en dos tiempos. En efecto, Fischer (1895), haciendo actuar la maceración acuosa de levadura sobre la amigdalina, no ha obtenido más que una hidrolisis parcial con separación de una sola molécula de glucosa, quedando *amigdalonitriglucósido* ($C^{14}H^{17}NO^6$). La maceración de levadura contendría, pues, *amigdalasa*, que sólo actúa sobre el disacárido, mientras que la emulsina contiene, además, *amigdalinasa*, capaz de separar el nitrilo de la molécula azucarada (Bertrand y Compton, 1911). Estas dos diastasas se encuentran en la emulsión de *Aspergillus* o de mohos parecidos (Javillier).

Según Rosenthaler (1908), la emulsina sería capaz, inversamente, de realizar la síntesis del nitrilo fenilglicólico. Para ello se añade al aldehido benzoico una solución acuosa de emulsina, y después ácido cianhídrico al 5 por 100 y agua; al cabo de veinticuatro horas de contacto se lixivia con cloroformo y así se obtiene el nitrilo. Esta reacción, de marcha diastásica, presenta un óptimo entre 25 y 30°. Pero, la parte de la emulsina que determina esta síntesis es diferente de la que produce la hidrolisis.

Sinigrina, sinalbina.—Cuando se deslíe mostaza negra en polvo en agua fría o tibia, se desprende un vivo olor de esencia de mostaza. Ésta no preexiste en las semillas; se forma por efecto de la acción de un fermento soluble, la *mirosina*, descubierta por Bussy, sobre una materia cristalizable, el *mironato potásico*, que a veces recibe todavía el nombre de *sinigrina*. El desdoblamiento se efectúa según la ecuación:

$$\underset{\text{Mironato potásico}}{C^{10}H^{16}NS^2O^9K^2} + H^2O = \underset{\text{Glucosa}}{C^2H^{12}O^6} + \underset{\text{Isosulfocianato de alilo}}{C^3H^5N:C:S} + \underset{\text{Bisulfato potásico}}{SO^4KH}.$$

Se encuentra la mirosina en casi todas las crucíferas, en muchas caparidáceas, tropeoleas y resedáceas. Guignard ha demostrado que, en las crucíferas, la mirosina estaba localizada en células especiales que se distinguen de las células próximas, sobre todo por la naturaleza de su contenido, exento de fécula, clorofila, aceite y aleurona, aun en los tejidos que están abundantemente provistos de estas mate-

rias. La reacción más característica de estas células consiste en la coloración violeta que comunica a su contenido el ácido clorhídrico por la acción de una pequeña elevación de temperatura. Estas células existen en todos los órganos, pero sobre todo en la semilla. Del mismo modo que en las almendras amargas, el glucósido está contenido en células diferentes de las que contienen la enzima.

La mirosina se encuentra también en la semilla de mostaza blanca, la cual contiene un glucósido, la *sinalbina*, desdoblable según la ecuación:

$$\underset{\text{Sinalbina}}{C^{30}H^{42}N^{2}S^{2}O^{15}} + H^{2}O = \underset{\text{Glucosa}}{C^{6}H^{12}O^{6}} + \underset{\text{Isosulfocianato de ortooxibencilo}}{HO.C^{6}H^{4}.CH^{2}.N : C : S}$$

$$+ \underset{\text{Sulfato de sinapina}}{C^{16}H^{24}NO^{5}.SO^{4}H.}$$

La mirosina posee además la propiedad de desdoblar otros glucósidos, porque se encuentra en vegetales que no contienen sinigrina ni sinalbina. Cuando se trituran estos vegetales frescos con agua, se forman, por la acción de la enzima, esencias distintas de la de mostaza.

Guignard (1909) ha demostrado que, si se someten en vaso cerrado las plantas de mostaza negra enteras a la acción de los vapores de cloroformo, la anestesia determina la producción de esencia de mostaza, cuyo olor se hace muy perceptible después de la completa volatilización del anestésico. Los órganos se vuelven lacios y caen de ellos gotas de líquido de olor y sabor característicos. La esencia de mostaza se produce, pues, en las mismas condiciones que el ácido cianhídrico (véase más adelante). En las plantas que contienen glucósidos (micronato potásico, amigdalina), estos principios son arrastrados con el agua que los lleva en disolución y se ponen en contacto con los fermentos localizados en células especiales: de lo que resulta un desdoblamiento que produce, ya sea la esencia de mostaza, ya el ácido cianhídrico. Las células observadas mediante el microscopio se encuentran en estado de plasmolisis.

La muerte por la helada produce análogo efecto.

Maquenne y Demoussy (1909) han indicado que los rayos ultravioletas ocasionan los mismos fenómenos. El ennegrecimiento de ciertas hojas, en el momento de su muerte, por una de las anteriores influencias (anestésicos o helada), reconoce también una causa análoga. En el caso de las hojas de *Aucuba*, la emulsina

actúa sobre un glucósido, la *aucubina;* en otras (aligustre) entra en juego entonces una oxidasa.

Según Heckel (1909), la acción de los anestésicos provoca fenómenos semejantes en las plantas que contienen *cumarina* (*Anthoxanthum odorathum, Melilotus officinalis*): el olor de la cumarina ($C^9H^6O^2$), lactona del ácido ortoxicinámico, se manifiesta inmediatamente.

Los anestésicos y, en general, todas las substancias que suspenden la función clorofiliana, ejercen una notable influencia en las plantas que contienen derivados ciánicos. Basta poner debajo de una campana, en que haya un vaso lleno de cloroformo o de éter, por ejemplo una rama de laurel-cerezo: las hojas pardean y exhalan el olor propio del ácido cianhídrico (Mirande, 1909).

Hablaremos brevemente aquí de algunos glucósidos, así como de sus productos de desdoblamiento. Actualmente se conocen más de un centenar de glucósidos.

Congéneres de la amigdalina.—Al lado de la amigdalina, de que acabamos de tratar, deben ponerse algunos otros glucósidos procedentes de vegetales de diversas familias, desdoblables, como la amigdalina, en glucosa, aldehido benzoico y ácido cianhídrico. Sin embargo, en vez de producir por desdoblamiento aldehido benzoico, algunos de estos glucósidos dan aldehido paraoxibenzoico (*durrina*, extraída del *Sorghum vulgare*); otros, como la *faseolunatina* (extraída del *Phascolus lunatus* o *judía de Java*), forman acetona, glucosa y ácido cianhídrico. La *laurocerasina* (extraída de la corteza del *Prunus padus*), la *prulaurasina* (extraída de las hojas del laurel-cerezo), la *sambunigrina* (extraída del *Sambucus nigra*), son glucósidos que dan los mismos productos de desdoblamiento que la amigdalina. En realidad, existen muchos glucósidos del ácido cianhídrico. La facilidad con que se forma esta substancia tóxica debe ser seriamente considerada, y sabido es que el haber comido *judías de Java* ha ocasionado muchos casos de envenenamiento.

Cuando una planta que contiene un glucósido cianhídrico es injertada en otra planta desprovista de él, o inversamente, no hay transporte alguno de este glucósido del injerto al portainjerto, ni de éste al primero. Pero, cuando las dos especies injertadas pertenecen al mismo género y producen el mismo glucósido (*Cotoneaster frigida, C. microphylla*, rosáceas), la migración de este cuerpo puede ser observada (Guignard).

Arbutina $C^{12}H^{16}O^7$. Se encuentra en las hojas del *Arbutus uva-ursi*, del *Vaccinium myrtillus*, en las hojas, la corteza y la raíz del peral. Hidrolizada por los ácidos diluídos o por la emulsina, la arbutina se desdobla en glucosa e *hidroquinona*, fenol diatómico. Este desdoblamiento puede ser provocado por una enzima especial, la *arbutasa*.

Coniferina $C^{16}H^{22}O^{8}$. Existe en muchas coníferas. Es desdoblable en glucosa y *alcohol coniferílico,* substancia perteneciente a la serie aromática, que a la vez es *alcohol* primario, fenol y éter fenólico.

Digitalina. Extraída de las hojas y de las semillas de la digital, la digitalina cristalizada $C^{31}H^{50}O^{10}$ produce por hidrolisis una materia de función fenólica, la *digitoxigenina,* y un azúcar especial, la *digitoxosa.*

Esculina. Este glucósido $C^{15}H^{16}O^{9}$, contenido en la corteza del castaño de Indias, se desdobla, por la acción de los ácidos diluídos o de la emulsina, en glucosa y *esculetina* $C^{9}H^{6}O^{4}$ (lactona de un ácido trioxicinámico). La corteza del castaño de Indias contiene una enzima, la *esculasa* (Sigmond, 1910).

Hesperidina $C^{50}H^{60}O^{27}$. Glucósido encontrado en las hojas y en los frutos de las plantas del género *Citrus;* da por hidrolisis glucosa, ramnosa y *hesperetina* $C^{16}H^{14}O^{6}$. Esta última substancia fija agua en contacto con potasa hirviente, formando *floroglucina* (fenol triatómico) y *ácido isoferúlico* (ácido oximetoxicinámico).

Floricina $C^{21}H^{24}O^{10}$. Glucósido encontrado en la corteza y en la raíz de muchos árboles de la familia de las rosáceas. No hidrolizada por la emulsina, la floricina se desdobla, en contacto con los ácidos diluídos y calientes, en glucosa y *floretina* $C^{15}H^{14}O^{5}$ (éter florético de la floroglucina; el ácido florético es el ácido parahidroxiatrópico).

Salicina $C^{13}H^{18}O^{7}$. Esta substancia, llamada también *glucósido saligénico,* se encuentra en las hojas, y sobre todo en la corteza de diversos chopos y sauces; es desdoblable por los ácidos diluídos y por la emulsina en glucosa y *saligenina,* alcohol-fenol $C^{6}H^{4}(OH)CH^{2}OH$. Una enzima especial *(salicasa),* encontrada en algunos vegetales de los géneros *Salix* y *Populus,* provoca el mismo desdoblamiento.

Entre los *glucósidos nitrogenados,* deben citarse la amigdalina, de que se ha tratado antes, la *solanina* y la *vicianina.*

Solanina $C^{52}H^{93}NO^{18}$ o, según algunos autores, $C^{28}H^{47}NO^{10}$. Se encuentra en muchas solanáceas; se extrae, generalmente, de los tallos jóvenes de las patatas. Es una substancia cristalizada en agujas finas y sedosas, casi insoluble en el agua, desdoblable en contacto con los ácidos diluídos y calientes en una mezcla de azúcares (glucosa y probablemente ramnosa), y un principio nitrogenado cristalizable, la *solanidina* $C^{40}H^{61}NO^{2}$.

Vicianina $C^{19}H^{25}NO^{10}$. Este glucósido, poco soluble en el agua fría, muy soluble en el agua caliente, levógiro, se encuentra en las semillas de la *Vicia angustifolia* (G. Bertrand, 1906). Muchas semillas de leguminosas contienen la diastasa capaz de desdoblar la vicianina. Pero, cuando las semillas están exentas de diastasa, tam-

bién lo están del glucósido. La vicianina se halla en algunas otras plantas del género *Vicia* (Bertrand y Srta. Rivkind, 1906). La vicianina deriva del nitrilo fenilglicólico izquierdo; la hidrolisis diastásica la desdobla en ácido cianhídrico, aldehido benzoico y *vicianosa* (pág. 162) [Bertrand y Weisweiller].

Saponinas.—Existen en multitud de vegetales y no son siempre idénticas unas a otras. Son incristalizables. La primera saponina que fué descubierta es la contenida en la raíz de *Saponaria (Saponaria officinalis*, cariofilácea).

El carácter común que presentan todas las saponinas es el de formar con el agua emulsiones que forman abundante espuma. Algunas veces las saponinas han sido clasificadas a partir del número de átomos de carbono que contienen.

La saponina de la corteza de Panamá (*Quillaja saponaria,* rosácea), que es la mejor estudiada, de fórmula $C^{19}H^{30}O^{10}$, es desdoblable por los ácidos diluídos en una materia azucarada y *sapogenina* $C^{14}H^{22}O^{2}$, principio cristalizado. Según Kobert, la corteza de *Quillaja* contendría dos saponinas: el *ácido quillájico* y la *sapotoxina*. La saponina se acumula poco a poco durante el desarrollo de las semillas del *Lychnis Githago* (Srta. Korsakoff, 1912).

Señalemos, por último, entre las substancias ternarias vegetales, la presencia de los cuerpos siguientes:

Fitosterinas.—Existe en los animales una substancia que no parece ser más que un producto de excreción, la *colesterina:* se encuentra en los cálculos biliares, el cerebro, la yema de huevo, el pus; frecuentemente acompaña a las lecitinas.

En el organismo vegetal se encuentran materias de la misma composición, a las cuales se ha dado el nombre de *fitosterinas*. Éstas son bastante abundantes en las semillas; su fórmula varía según los autores. Primero se les atribuyó la siguiente: $C^{26}H^{44}O + H^{2}O$; investigaciones posteriores tienden a asignarles como fórmula $C^{27}H^{44}O$. Generalmente son levógiras y poseen las propiedades de un alcohol monovalente. La riqueza de las semillas en fitosterina aumenta con

los progresos de la maduración. Por otra parte, se ha encontrado la fitosterina en otros órganos además de las semillas (raíces, cortezas).

Las fitosterinas están substituídas en los hongos por substancias de composición próxima, que dan algunas de sus reacciones coloreadas, pero que se apartan, sin embargo, de ellas por muchas propiedades. La primera de estas substancias ha sido caracterizada como especie diferente de las demás fitosterinas por Tanret, quien, habiéndola encontrado en el centeno atacado por el cornezuelo, la llamó *ergosterina*. Más tarde, Gerard, habiendo encontrado en muchos hongos un cuerpo que daba las mismas reacciones, generalizó la noción de las ergosterinas y caracterizó a estas substancias como substituyentes, en los hongos, de la fitosterina de las plantas superiores. La ergosterina $C^{27}H^{42}O.H^{2}O$ frecuentemente va acompañada de un homólogo inferior, la *fongisterina* $C^{25}H^{40}O.H^{2}O$.

Ácidos vegetales.—Generalmente estos ácidos se originan a consecuencia de fenómenos de respiración incompleta: por esto hablaremos de estos cuerpos a propósito de la respiración.

Nos ocuparemos en los cuerpos nitrogenados de origen vegetal cuando hayamos estudiado la asimilación y la elaboración del nitrógeno.

CAPITULO V

ASIMILACIÓN Y ELABORACIÓN DEL NITRÓGENO POR LOS VEGETALES

Fijación del nitrógeno gaseoso.—Naturaleza de las tuberosidades radicales de las leguminosas y su papel fisiológico.—Asimilación del nitrógeno gaseoso por ciertas algas.—Nitragina, alinita.—Nutrición nitrogenada de los vegetales a expensas del amoníaco gaseoso.—Nutrición nitrogenada de los vegetales a expensas del nitrógeno nítrico y del nitrógeno amoniacal contenidos en el suelo.—Elaboración del nitrógeno mineral; transformación de este nitrógeno en nitrógeno albuminoide.—Nutrición nitrogenada a expensas de substancias orgánicas nitrogenadas. — Materias nitrogenadas de origen vegetal: albuminoides, ácidos amínicos, alcaloides.

I

GENERALIDADES SOBRE LA ASIMILACIÓN DEL NITRÓGENO

El nitrógeno es indispensable a la planta, de la misma manera que el carbono. Entra en la constitución del vegetal en forma de materias cuaternarias, llamadas *albuminoides*, porque se aproximan por sus propiedades generales y por su composición a la albúmina de la clara de huevo. Las materias albuminoides de la planta son numerosas, y su estructura molecular ha sido largo tiempo ignorada. Los trabajos de Schützenberger, por una parte, y los más recientes de E. Fischer y sus discípulos, por otra, han dado alguna luz sobre su constitución, y se entrevé el momento en que podrá efectuarse la síntesis de algunas de las más sencillas de estas substancias.

Así como toma el carbono que necesita a un compuesto mineral muy simple, el gas carbónico, la planta verde toma su nitrógeno a compuestos nitrogenados de fórmula poco complicada: a los nitratos y a las sales amoniacales que encuentra en el suelo, a los vapores de carbonato amónico que halla en muy pequeña cantidad en la atmósfera; a veces, se apodera del mismo nitrógeno gaseoso.

Hemos visto que la materia húmica de los suelos podía verosímilmente servir en algunos casos de alimento carbonado para las plantas verdes; del mismo modo, el nitrógeno *orgánico* del suelo, en íntima asociación con la materia húmica, *en forma de amidas complejas*, puede servir de fuente de nitrógeno a algunos vegetales verdes.

En lo que sigue vamos a estudiar la nutrición nitrogenada de la planta verde: 1.°, *a expensas del nitrógeno gaseoso del aire;* 2.°, *a expensas del nitrógeno nítrico y del nitrógeno amoniacal* que se encuentran en el suelo; 3.°, *a expensas de ciertos compuestos complejos* (amidas), que pueden ponerse a su disposición o que la planta encuentra en el suelo en forma de materia húmica.

El interés que despierta la cuestión de la nutrición nitrogenada aumentó el día en que Berthelot (1885) demostró que el nitrógeno gaseoso, hasta entonces reputado inerte, era capaz de fijarse por intermedio de ciertos microorganismos en la materia carbonada del suelo, y en que Hellriegel y Wilfarth, por una serie de notables experimentos, hicieron ver que las leguminosas, plantas conocidas desde largo tiempo con el nombre de *mejorantes,* absorbían este nitrógeno gaseoso. Esta absorción está relacionada con la presencia, en las raíces, de nudosidades especiales habitadas por bacterias específicas.

Historia.—Son aquí indispensables algunas palabras respecto de la historia de la nutrición nitrogenada.

Desde que fué conocida la composición del aire, se preguntó qué papel desempeñaba el nitrógeno respecto de los vegetales. Priestley, y después Ingenhousz, dedujeron de sus experimentos que el nitrógeno gaseoso era absorbido *directamente* por la planta y servía para

su nutrición. Sin embargo, de Saussure, repitiendo los ensayos de Priestley, reconoció que nunca las plantas condensan el nitrógeno gaseoso, y que no toman el nitrógeno que necesitan más que del amoníaco atmosférico: el nitrógeno del aire no intervendría directamente y su papel no sería otro que el de moderar las afinidades demasiado vivas del oxígeno.

Es preciso llegar a los trabajos de Boussingault (1838) para encontrar el empleo de un método riguroso de investigación. Los experimentos anteriores habían sido hechos poniendo las plantas debajo de campanas y, de la diferencia entre las composiciones inicial y final del gas contenido en ellas, se deducía la absorción o no absorción del gas nitrógeno. Semejantes ensayos, sobre todo en la época en que fueron hechos, ofrecían incertidumbres demasiado grandes para que fuese posible decidirse francamente en un sentido o en otro; habría sido preciso para ello contar con cambios de volumen bastante grandes, y no era esto lo que ocurría.

Boussingault emplea el siguiente procedimiento. Compara la composición de la semilla con la de la cosecha obtenida a expensas solamente del aire y del agua. Este riguroso procedimiento, por otra parte, ha sido el único de que se ha hecho uso para el estudio de esta cuestión. Se determinará, pues, el nitrógeno inicial contenido en las semillas que se ensayan, en la tierra y aun en los recipientes que contienen esta tierra, y, por otra parte, se harán las mismas determinaciones al terminar el experimento. A estos datos conviene añadir la determinación del nitrógeno que contiene el agua de riego y la del nitrógeno que ha llevado consigo el agua de lluvia, si se opera al aire libre. Debe tenerse también en cuenta el nitrógeno amoniacal del aire. La tierra en que se siembran las semillas es una arena silícea, calentada previamente al rojo para destruir todo indicio de materia orgánica.

La primera serie de experimentos de Boussingault dió al ilustre agrónomo resultados contradictorios. Unas veces la absorción del nitrógeno gaseoso era evidente (trébol, guisantes), y otras era dudosa o nula. Doce años después de estos primeros ensayos, Boussingault volvió a ocuparse en esta cuestión operando con semillas que germinaban en un medio estéril y cubiertas por una campana, es decir, en una *atmósfera confinada:* ninguna planta fijó nitrógeno en estas condiciones. Así, a pesar de los resultados contrarios obtenidos en la misma época (1849-1850) por Georges Ville, la inmensa mayoría de los fisiólogos se adhirieron a la opinión de Boussingault: las plantas no absorben el nitrógeno gaseoso de la atmósfera.

Fenómenos naturales que hablan en favor de la absorción del nitrógeno gaseoso. — Pérdidas de nitrógeno combinado. — La explotación regular de los bosques quita, a cada corta, una notable cantidad de nitrógeno, que

nunca es devuelta al suelo, y sin embargo éste permanece indefinidamente fértil. La hierba que crece en los prados de las altas montañas alimenta, durante la mitad del año, los ganados que exportan el nitrógeno en forma de leche y de carne muscular; y este nitrógeno no es devuelto al prado en ninguna forma. De todos modos, desde que se conoce el papel fijador del nitrógeno que ejercen las leguminosas, es preciso admitir que un suelo en que crecen estas plantas se enriquece progresivamente y puede luchar contra las causas de empobrecimiento debidas a la exportación animal.

Por otra parte, las aguas meteóricas llevan al suelo cantidades variables de amoníaco y de ácido nítrico, siempre pequeñas, a lo menos en nuestro clima (14 kilogramos aproximadamente por año y por hectárea), pero que pueden ser notables en los países tropicales.

Boussingault ha demostrado que si, por una parte, se determina la proporción de nitrógeno de los abonos aplicados a una tierra sometida a una rotación regular de cultivos y, por otra parte, el nitrógeno de las cosechas obtenidas en esta tierra, se observa siempre que hay más nitrógeno en las cosechas que en los abonos empleados. Si la rotación no comprende leguminosas, el excedente es escaso; si comprende leguminosas, es mucho mayor. Un cultivo continuo de alfalfa durante cinco años consecutivos había exportado 1035 kilogramos de nitrógeno, siendo así que no se le había dado al suelo en forma alguna.

Entre las causas productoras de nitrógeno combinado, deben citarse los experimentos de Berthelot (1876), relativos a la fijación del nitrógeno libre por la acción del *efluvio eléctrico* (fijación del nitrógeno por el vapor de bencina, la esencia de trementina, el acetileno, la celulosa). Análogos fenómenos deben producirse en la naturaleza, principalmente en tiempo de tempestad: serán particularmente intensos en las montañas y en los picos aislados, donde la tensión eléctrica es a veces considerable.

Esta fijación del nitrógeno gaseoso se efectúa también por la acción de tensiones eléctricas incomparablemente más débiles (diferencias de potencial de algunas decenas de vol-

tios); Berthelot la ha conseguido con la dextrina y la celulosa. Es, pues, probable que sea ésta una causa no dudosa de la síntesis del nitrógeno combinado que contienen los vegetales. Pero, el valor de esta fijación es actualmente desconocido.

Al lado de estos fenómenos de *restitución natural*, existen continuas pérdidas de nitrógeno combinado, imputables a los fenómenos de putrefacción de las materias nitrogenadas, así como a las combustiones vivas. ¿En qué medida se restablece el equilibrio? Algunos autores, por un cálculo aproximado, han emitido la opinión de que las causas de restitución del nitrógeno combinado procedente de la atmósfera predominaban sobre las causas de desaparición. Pero, es muy difícil hacer un balance exacto, sobre todo en el segundo caso.

Ocupémonos ahora en la forma en que los vegetales toman del ambiente el nitrógeno que necesitan. Primero estudiaremos la fijación del gas nitrógeno libre en ciertos vegetales. Este modo especial de nutrición nitrogenada es el último que ha sido descubierto, pero presenta un interés de primer orden.

II

FIJACIÓN DIRECTA DEL NITRÓGENO GASEOSO POR LOS VEGETALES VERDES

Principiaremos estudiando la fijación del nitrógeno gaseoso por las *leguminosas*. Efectivamente, en esa categoría de plantas es donde fué observada por vez primera, *con absoluta seguridad*, esta propiedad tan notable. Las leguminosas eran consideradas como *plantas mejorantes* desde largo tiempo; se sabía que el suelo, después de su cultivo, no solamente no quedaba empobrecido en nitrógeno, a pesar de la exportación a menudo considerable de este ele-

mento por la cosecha, sino que el suelo aun se había enriquecido. La explicación de este fenómeno, en contradicción con la opinión de Boussingault, variaba con los observadores: unos atribuían este enriquecimiento al gran desarrollo del sistema radicular de estas plantas, las cuales podían tomar así de muy adentro del suelo, y aun del subsuelo, alimentos nitrogenados inaccesibles a otras raíces más superficiales; otros creían que, gracias a su abundante follaje, las leguminosas absorbían de la atmósfera los menores indicios de compuestos nitrogenados. Por último, la opinión defendida por algunos se resumía así: la combinación del nitrógeno libre con las leguminosas es facilitada por la electricidad atmosférica, y debe verse en ello una extensión de los experimentos de Berthelot sobre la influencia del efluvio eléctrico. Tal era especialmente la conclusión de las investigaciones de Atwater (1884) sobre la manera como las leguminosas absorbían el nitrógeno.

Así, al lado de las negaciones de los que admitían la opinión de Boussingault, se presentaba la afirmación de los que, testigos de una fijación de nitrógeno observada en condiciones de absoluta sinceridad, exponían los hechos tal como los habían observado, pero sus explicaciones a menudo carecían de base científica.

Un agrónomo alemán, Hellriegel, quien desde más de veinte años estudiaba el problema de la nutrición nitrogenada de los vegetales, expuso, en el mes de agosto de 1886, en la quincuagésimanovena asamblea de los naturalistas alemanes reunidos en Berlín, el siguiente hecho:

Las fuentes de nitrógeno ofrecidas por la atmósfera bastan para producir en las leguminosas un desarrollo normal y aun de gran lozanía: entra aquí en acción el nitrógeno libre. Los tubérculos que las leguminosas llevan en sus raíces están en relación directa con esta asimilación. Se puede provocar a voluntad la formación de los tubérculos radicales y el desarrollo de las leguminosas en suelos desprovistos de nitrógeno, si se añade a estos suelos una pequeña cantidad de tierra cultivada desleída.

Continuando sus investigaciones en el año 1887, Hellriegel dió a conocer, en 1888, en una memoria muy extensa, publicada en colaboración con Wilfarth, todos los pormenores de sus experimentos.

Esta memoria, muy interesante, contiene una demostración muy precisa de la nutrición nitrogenada de las leguminosas por medio del nitrógeno libre de la atmósfera; además, pone de manifiesto el papel que desempeñan en el suelo ciertos microorganismos capaces de vivir en *simbiosis* con las raíces de una planta. Ya hemos aludido antes a los fenómenos simbióticos e indicado la diferencia entre la simbiosis y el parasitismo (véanse págs. 112 y 113).

Los anteriores trabajos de Berthelot sobre la fijación del nitrógeno gaseoso en la tierra de labor por intermedio de los microorganismos, y los de buen número de sabios sobre el *contenido* de los tubérculos radicales de las leguminosas, no fueron extraños, por otra parte, a la interpretación que Hellriegel y Wilfarth dieron a sus experimentos.

Ocupémonos ahora en la manera como se demostró experimentalmente el hecho de la fijación del nitrógeno gaseoso. Luego estudiaremos la naturaleza de los tubérculos radicales.

Exposición de las investigaciones de Hellriegel y Wilfarth. – Hacía largos años que Hellriegel había emprendido la determinación del efecto nutritivo de cada elemento suministrado a una planta. Un compuesto, indispensable para la existencia de ésta, debía tener un efecto proporcional a su cantidad. Pero, relativamente al nitrógeno, hubo manifiesta discordancia. Entre el crecimiento y la cantidad de nitrógeno asimilable contenido en el suelo existía una estrecha relación, especialmente en el caso de los cereales: disminuyendo la cantidad de nitrógeno alimenticio, había una disminución correspondiente en la cosecha; a una supresión del nitrógeno correspondía una cosecha muy mezquina. Por el contrario, en los años 1862 y 1863, Hellriegel observó que las leguminosas papilionáceas (trébol, guisantes), cultivadas en arena desprovista de nitrógeno, podían prosperar y producir flores y frutos. Sin embargo, las plantas así cultivadas presentaban, a veces, curiosas anomalías: al lado de una planta en buen estado había otra cuyo desarrollo era escaso. A veces todas las plantas morían simultáneamente de inanición. Estos experimentos, reanudados en 1883, dieron resultados idénticos a los precedentes: las leguminosas podían desarrollarse normalmente en ausencia de nitrógeno combinado, aunque, en algu-

nos casos, este desarrollo, sin causa aparente de enfermedad, fracasaba por completo.

Durante sus investigaciones sobre el crecimiento de los *guisantes* cultivados en medio no nitrogenado, Hellriegel observó una particularidad muy interesante. Los guisantes, después de haber vaciado sus cotiledones, parecían sufrir por falta de nitrógeno; la marcha de la vegetación cambia, la planta amarillea: a este período de transición el autor le dió el nombre de *hambre de nitrógeno*. Algunos de estos vegetales acaban por triunfar de este momento crítico y, recobrando su aspecto normal, continúan desarrollándose hasta la florescencia y la fructificación. Otros no pueden evolucionar y se comportan como las gramíneas a las cuales se ha negado toda alimentación nitrogenada.

Hellriegel observó igualmente que, en el cultivo de las leguminosas, no había proporcionalidad entre el peso de la cosecha y el de los nitratos que se ponen a disposición de estas plantas, mientras que, en el caso de las gramíneas, esta proporcionalidad constituía la regla general.

Todas las hipótesis emitidas anteriormente para explicar la acumulación de nitrógeno por las leguminosas, hipótesis antes recordadas, son impotentes para aclarar las irregularidades varias veces observadas en el desarrollo de los guisantes en suelos desprovistos de nitrógeno: plantas de vegetación normal crecían al lado de otras plantas de muy mezquino aspecto.

Era, pues, de presumir que la causa fijadora de nitrógeno era independiente de las condiciones en que hasta ahora se había operado, y que la fuente de este nitrógeno no podía ser buscada más que en el *nitrógeno libre* de la atmósfera, dadas las enormes ganancias de este elemento que se notaban en algunas leguminosas durante su completo desarrollo.

Aquí es donde aparece el papel de los microorganismos. Apoyándose, por una parte, en los experimentos de Berthelot, relativos a la fijación del nitrógeno gaseoso en el suelo y, por otra parte, en el hecho de que las raíces de las leguminosas son invadidas por *tubérculos* llenos de bacterias o de tejidos micoicos, se podía pensar que *gérmenes* procedentes del exterior no eran ajenos a la facultad que tienen las leguminosas ensayadas de apoderarse del nitrógeno gaseoso. Estos gérmenes, cuya ubicuidad es evidente, podían, en efecto, depositarse, según los caprichos del azar, en un sitio y no en otro.

Estaba, pues, formalmente indicado que, en los futuros experimentos, se introdujeran *voluntariamente* algunos de estos gérmenes, tomados del suelo, regando un medio de cultivo, previamente esterilizado, con una pequeña cantidad de tierra desleída en la que hubiesen vegetado leguminosas.

Los nuevos experimentos fueron dispuestos de la siguiente

manera: se escogieron cuarenta y dos macetas idénticas, que contenían arena cuarzosa calcinada y la misma solución nutritiva, desprovista de nitrógeno; treinta y dos fueron abandonadas a sí mismas, diez recibieron cada una 25 centímetros de una infusión de tierra, dos fueron recubiertas de algodón en rama esterilizado. En cada maceta se sembraron dos semillas de guisante. Al cabo de pocos días después de la germinación, no había diferencia entre las plantitas; luego todas principiaron a amarillear a causa del agotamiento de las reservas contenidas en sus cotiledones. Aproximadamente al cabo de un mes de la siembra, las plantas que habían recibido la infusión de tierra presentaron una coloración más verde que las de la primera serie, y esta diferencia se acentuó de día en día. Pero, durante este tiempo, algunas de las plantas de la primera serie principiaron a reverdecer, mientras que otras siguieron amarillas y mustias. En la tercera serie (macetas cubiertas de algodón), la vegetación fué miserable. El experimento duró tres meses y medio: todas las plantas de la segunda serie, y una parte de las de la primera que habían triunfado del período de inanición, como se ha dicho, se desarrollaron normalmente; el análisis demostró que eran más ricas en nitrógeno que la semilla inicial de que habían nacido.

La conclusión no puede ser otra que ésta: en la primera serie, la irregularidad de la vegetación debe ser la regla general, como en los experimentos anteriores, puesto que la siembra en vasos abiertos al aire libre está abandonada al azar. En la segunda serie, habiendo sido hecha la siembra de un modo regular, el desarrollo ha sido normal en todas las plantas. En la tercera, en la que las macetas han sido substraídas a las influencias exteriores, la esterilidad ha sido absoluta.

Las gramíneas cultivadas en las mismas condiciones han dado un resultado absolutamente negativo: la infusión de tierra no ha producido efecto alguno.

En presencia de estos resultados, Hellriegel y Wilfarth fueron conducidos a creer que la fijación del nitrógeno gaseoso por las leguminosas debe estar fundada en un fenómeno de *simbiosis* entre la planta y ciertos microorganismos,

y que a cada leguminosa debe corresponder un microbio especial.

La presencia de microorganismos fijadores en la infusión de tierra está demostrada de una manera irrefutable por los siguientes hechos: 1.º, efectos producidos por esta infusión añadida aun en dosis pequeñísimas; 2.º, cuando las leguminosas crecen en un medio desprovisto de nitrógeno y principian a morir de inanición desde el momento en que sus cotiledones están vacíos, renacen súbitamente a la vida si el medio ha recibido la infusión de tierra; 3.º, esta infusión no produce efecto alguno si ha sido calentada a la temperatura de 70º; 4.º, las infusiones de tierra de diversas procedencias no producen el mismo efecto en todas las leguminosas: aquí interviene una acción *especifica,* de que diremos algo más adelante; 5.º, las leguminosas pueden desarrollarse normalmente en un suelo esterilizado, y sin adición de infusión de tierra, si no se impide cuidadosamente el acceso de los gérmenes llevados por el aire.

Período de inanición. — Hambre de nitrógeno. — Cuando las semillas han vaciado sus cotiledones, el período de inanición aparece por efecto de la falta de nitrógeno. El extracto de tierra era incorporado siempre al medio de cultivo al mismo tiempo que la solución nutritiva exenta de nitrógeno, es decir, desde el principio del experimento; pero, en los comienzos de la vegetación, su influencia es nula. Esta influencia no se manifiesta más que durante el período de inanición. Se ve entonces que el color verde, momentáneamente desaparecido, recobra su matiz normal, y la planta entra en el período de asimilación propiamente dicho. La aparición de los tubérculos en las raíces ocurre durante el período de inanición: precede, pues, al período de asimilación y crecimiento.

El nitrógeno fijado por las leguminosas es el nitrógeno del aire. — Los experimentos descritos (con extracto de tierra) fueron hechos en una gran vitrina atravesada por una corriente de aire enriquecido en gas carbónico, pero desprovisto de nitrógeno combinado: los resultados fueron

los mismos que en el aire libre, es decir, que las plantas fijaron el nitrógeno gaseoso. Un resultado más demostrativo todavía ha sido obtenido por Hellriegel y Wilfarth. Se sembró una semilla de guisante en un suelo artificial formado por 4 Kg. de arena cuarzosa calcinada, adicionado de las sales minerales necesarias y de tierra desleída. La arena estaba contenida en una gran botella de vidrio de 44 litros, y no se destapaba más que para introducir, en ciertos momentos, gas carbónico. En este caso todavía hubo fijación de nitrógeno por la planta. Este último experimento prueba de un modo irrebatible que lo que entra en juego aquí es realmente sólo el nitrógeno gaseoso de la atmósfera.

Pone fuera de duda esta fijación un elegante experimento de comprobación, hecho en 1890 por Schlœsing hijo y Laurent. Estos autores ponen en contacto con leguminosas cultivadas en *recipientes cerrados* en arena calcinada, provista de las sales indispensables y de tierra desleída, un volumen de *nitrógeno puro* exactamente conocido y, mientras dura la vegetación, hacen entrar el gas carbónico necesario para el ejercicio de la función clorofiliana. Al terminar el experimento se extraían, haciendo el vacío, los gases que quedaban en la campana: de la comparación de los dos volúmenes de nitrógeno, inicial y final, se podrá deducir la absorción o la no absorción del nitrógeno gaseoso. Como comprobación se determinó, después de desmontar el aparato, el nitrógeno que contenía el suelo y el que formaba parte de la planta. En el caso en que hay fijación, la cifra que resulta de la última determinación es forzosamente superior a la riqueza inicial de las semillas en nitrógeno, y el excedente encontrado debe corresponder al nitrógeno gaseoso desaparecido, medido directamente.

La concordancia observada es muy satisfactoria. El segundo método de determinación demuestra que ha habido fijación de nitrógeno durante la vegetación, y el primero (método de volumen) demuestra que la ganancia procede del nitrógeno gaseoso.

He aquí algunas cifras relativas a este asunto. El cultivo de tres guisantes, en las condiciones anteriores, ha dado los

resultados siguientes: nitrógeno gaseoso fijado = 29,1 cm^3 = = 0,0365 gr.; nitrógeno del suelo y de las semillas antes del experimento = 0,0326 gr.; nitrógeno del suelo y de las plantas después del experimento = 0,0732 gr.; ganancia de nitrógeno = 0,732 gr — 0,0326 gr = 0,0406 gr: el método de volumen da 0,0365 gramos.

De un segundo experimento ha resultado: nitrógeno gaseoso desaparecido = 0,0324 gr.; nitrógeno encontrado en el suelo y las semillas = 0,0341 gramos.

Veremos más adelante que este método de volumen ha permitido también demostrar la fijación del nitrógeno gaseoso por ciertos vegetales inferiores.

Enriquecimiento del suelo en nitrógeno. — Hellriegel y Wilfarth analizaron, después de los experimentos, no sólo las plantas desde el punto de vista de su riqueza en nitrógeno, sino también el suelo. Éste constantemente se ha enriquecido en nitrógeno cuando la vegetación es muy activa, y el nitrógeno acumulado se encuentra en la arena en forma de combinación orgánica. Schlœsing hijo y Laurent han observado también este enriquecimiento: el suelo de su primer experimento contenía en el estado inicial 0,0043 gr. de nitrógeno, y 0,0151 gr. en el estado final; el suelo del segundo experimento contenía respectivamente 0,0043 y 0,0175 gramos de nitrógeno.

Otros trabajos relativos a la absorción del nitrógeno por las leguminosas. — Entre los numerosos experimentos de comprobación a que ha dado lugar el magistral trabajo de Hellriegel y Wilfarth, deben citarse las investigaciones de Berthelot (1888). Se refieren a seis especies de leguminosas cultivadas en una tierra cuya proporción de nitrógeno era exactamente conocida. Se procedió de tres maneras: 1.ª, *debajo de una campana,* a cuya atmósfera se adicionaban cada día algunos centímetros cúbicos de gas carbónico; en la tierra hubo ganancia de nitrógeno (plantas ensayadas: altramuz y arveja). El desarrollo de las plantas fué incompleto; lo que puede explicarse por la saturación de la atmósfera por el vapor acuoso, la emisión posible de productos tóxicos volátiles, el calentamiento de las paredes de la vasija por la concentración solar, el potencial eléctrico nulo; 2.ª, *al aire libre y con sólo abrigo transparente;* las seis especies de leguminosas dieron constantemente un

enriquecimiento en nitrógeno. La ganancia, excepto respecto del altramuz, sobrepuja en mucho a la ganancia observada en vasos cerrados, ya en las plantas, ya en la tierra sola; 3.ª, *al aire libre y sin abrigo;* ha habido a la vez fijación por la tierra y por las plantas.

La influencia de la *electricidad* en la vegetación ha sido examinada por Berthelot (1889). La tierra, sola o con las plantas, era puesta en un campo eléctrico manteniendo, mediante una pila abierta, una diferencia de potencial constante entre la tierra y la superficie exterior del campo eléctrico limitada por láminas metálicas. El vaso o plato que contenía la tierra estaba colocado encima de una torta de resina; fijadas en el borde del vaso y a distancias iguales, tres láminas de platino se introducían en la tierra del vaso, comunicando, por una parte entre sí, y por otra con uno de los polos de la pila. El otro polo estaba en relación con un disco de tela metálica de cobre rojo aproximado todo lo posible a la superficie de la tierra que contenía el vaso. El potencial fué igual, ya a 33 voltios, ya a 132. Cada experimento fué hecho simultáneamente al aire libre, debajo de abrigo y debajo de una campana.

Los experimentos hechos con leguminosas han demostrado que, en cinco casos entre seis, el vaso electrizado había fijado más nitrógeno que un vaso testigo no electrizado. Es, pues, verosímil que en el fenómeno de la fijación del nitrógeno interviene una acción propia de la electricidad.

Los trabajos de Hellriegel y Wilfarth han recibido una plena confirmación con los experimentos de Lawes y Gilbert (1890) y los de Petermann (1894).

Vamos a estudiar ahora la causa de esta fijación del nitrógeno, que es correlativa del desarrollo de tubérculos o nudosidades especiales en las raíces de las leguminosas.

III

NATURALEZA DE LOS TUBÉRCULOS RADICALES

La presencia de hinchazones más o menos voluminosas en las raíces de las leguminosas fué observada hace ya largo tiempo. Se encuentran estas *nudosidades* en las raíces de casi todas las plantas de esta familia, tanto indígenas como exóticas. Son muy frecuentes en los géneros *Trifolium*, *Pisum*, *Lupinus*, *Vicia;* no abundan siempre de la misma manera en la misma especie. Su forma difiere, a veces, mucho en especies próximas: en unos casos son esféricas, en otros

elípticas, cónicas, más o menos agrupadas entre sí. En ciertos casos la misma raíz aparece como hinchada.

Se encuentran formaciones semejantes en algunas raíces de plantas pertenecientes a otras familias *(Alnus, Eleagnus)*.

La *coloración* de estas nudosidades es la misma que la de las raíces, a lo menos en la mayoría de los casos.

Una antigua observación de Kühn y Rautenberg sobre las habas ha llevado a estos autores a admitir que, tanto en el agua como en la tierra, la producción de los tubérculos es inversamente proporcional a la riqueza del medio en nitrógeno. Cultivando trébol encarnado en suelos muy ricos en materia nitrogenada, H. de Vries obtuvo plantas que, llegadas al término normal de la vegetación, no tenían tubérculos radicales, mientras que individuos endebles que vegetaban en un medio pobre en principios nitrogenados los presentaban en abundancia. Aun cuando esta concordancia entre la pobreza del medio en nitrógeno y la aparición de los tubérculos radicales no sea absoluta, se puede admitir que generalmente ocurre.

Una curiosa observación, hecha casi en la misma época por Prillieux y Frank (1879), indica que el desarrollo de los tubérculos radicales puede ser provocado *artificialmente* introduciendo en el medio de cultivo raíces provistas de estos órganos. Esta *inoculación experimental,* efectuada después con éxito, será estudiada más adelante.

La *naturaleza* de los tubérculos había sido causa de que se emitiesen las más variadas opiniones antes del descubrimiento de Hellriegel y Wilfarth, es decir, antes de la época en que se demostró la relación que existe entre su aparición y el desarrollo de la planta.

Estos tubérculos habían sido considerados, primero como agallas, después como excrecencias producidas por anguílulas, o como simples excrecencias de los tejidos de la raíz, o como una forma especial de raíz, hasta como raicillas. Algunos los llamaban *tubérculos espongiolarios,* porque creían que estas nudosidades no eran más que extremidades de raíces.

Estudiada por numerosos experimentadores, la *estructura* de las nudosidades ha sido objeto de profundas investigaciones de parte de Vuillemin y Laurent. Un tubérculo adulto está formado siempre por dos categorías de células muy distintas: las unas, relativamente grandes, llenas de un contenido denso y muy granujiento, ocupan la parte central. Están rodeadas de una capa de células más o menos espesas, como de una corteza de elementos más pequeños y hialinos. En el medio de esta corteza se encuentran haces líberoleñosos en relación con los de la raíz.

Las nudosidades jóvenes tienen pelos absorbentes, que más tarde desaparecen.

Contenido de los tubérculos radicales.—Cuando se pista debajo del agua un tubérculo, se desprenden de él corpúsculos bacteriformes o *bacteroides*, que se mueven rápidamente y que, desde 1861, Woronine consideraba próximos a las bacterias. Este autor creía que su reproducción se efectuaba por escisión o por gemación. Estos elementos a menudo se presentan ramificados. Además, las células más jóvenes del parénquima del tubérculo contienen filamentos protoplasmáticos, sin paredes divisorias, irregulares, que atraviesan las membranas celulares y que forman aquí y allá hinchazones en masas ovoides o esféricas (Prillieux, Frank). Los bacteroides serían de naturaleza fungosa y vivirían en simbiosis con las raíces. Esta noción de *simbiosis* ha sido desarrollada por numerosos sabios, entre otros por Prazmowski y Beijerinck.

Según Mazé, los filamentos no constituirían un micelio de hongo; resultarían de una simple acumulación de mucosidades alrededor de las bacterias, no serían organismos vivos generadores de bacterias y no deberían ser considerados más que como un producto accesorio del desarrollo de éstas.

El *papel fisiológico* de los tubérculos ha sido desconocido hasta las investigaciones de Hellriegel y Wilfarth. Muchos autores consideraban los tubérculos como formaciones patológicas; otros, como formaciones normales íntimamente relacionadas con la economía de la planta. Unos consideran estas tuberosidades como graneros de abundancia en los cuales la planta acumula reservas nitrogenadas; otros los tienen como órganos de asimilación. Los primeros, Hellriegel y Wilfarth, han descubierto las relaciones existentes entre la asimilación del nitrógeno y la presencia de los tubérculos en las raíces de las leguminosas. Estas, cultivadas en medio estéril en una arena desprovista de nitrógeno, no tienen tubérculos y no asimilan el nitrógeno gaseoso. En un suelo no esterilizado, pero exento de nitrógeno, la producción de tuberosidades abundantes en las raíces de las leguminosas es un hecho normal; la vegetación es entonces activa con ganancia de nitrógeno. Si las plantas se desarrollan en un medio esterilizado provisto de nitratos, sus raíces no presentan nudosidades, y la planta toma su nitrógeno solamente de los nitratos. Se puede, pues, adoptar la opinión de Vuillemin (1888) y llegar a la conclusión, hasta nueva orden, de que los tubérculos radicales son *micorrizas*, es decir, raíces unidas a un hongo que vive en simbiosis con ellas.

Estos tubérculos no son, pues, *simples depósitos*, como se admitía anteriormente. Sabemos, en efecto, que Hellriegel y Wilfarth, cultivando guisantes en un suelo pobre en nitrógeno, han observado dos períodos bien distintos en su vegetación. Mientras dura la vegetación, la planta crece con regularidad, y su color es normal. Pero, tan pronto como ha vaciado sus cotiledones sucede a este período una fase de inanición: en este momento los tubérculos aumentan de tamaño y se llenan de materias albuminoides. Estos tubérculos no

pueden, pues, ser depósitos; no se podría concebir, efectivamente, que la planta les cediese las materias asimilables de que tiene tanta necesidad. Se debe deducir simplemente que las substancias acumuladas en los tubérculos radicales son empleadas para nutrir la planta, y que este aprovisionamiento de albuminoides se efectúa después que los órganos asimiladores, hojas y raíces, han adquirido cierto desarrollo realizado a expensas de las reservas de la semilla. Los tubérculos radicales son lugares de formación de materias nitrogenadas.

Cultivo del microbio de las nudosidades radicales. —Convenía ensayar el cultivo en medio artificial del microbio de las nudosidades radicales para conocer primero las propiedades biológicas de este microbio, y para ver luego si, en cultivo artificial, era capaz de fijar el nitrógeno gaseoso. Estas tentativas han sido hechas desde el año 1890 por muchos experimentadores.

El microbio de las nudosidades radicales ha recibido el nombre de *Bacillus radicicola* y el de *Rhizobium leguminosarum*.

No pudiendo exponer aquí la cuestión en toda su amplitud, remitiremos al lector a la obra de L. Lutz: *Les microorganismes fixateurs d'azote* (París, 1904). Hablaremos sólo de los experimentos en que la fijación del nitrógeno gaseoso, que hasta entonces siguió dudosa en los cultivos artificiales, fué demostrada de una manera positiva por los trabajos de Mazé (1897-1898).

Este autor ha llegado a cultivar el microbio de las nudosidades, dándole desde el principio una materia albuminoide como alimento, y poniéndolo así en estado de desarrollarse normalmente. Si este microbio es un fijador de nitrógeno, debe, correlativamente, destruir la materia carbonada. Se le ofrecerá sacarosa como alimento hidrocarbonado, y los cultivos se efectuarán en contacto con el aire. Como medio nitrogenado de cultivo, Mazé empleó caldo de judías, que contenía $\frac{5}{10000}$ de nitrógeno. Se añaden a este caldo 2 por 100 de sacarosa y 1 por 100 de cloruro sódico con indicios de bicarbonato sódico. Se da forma sólida a este caldo con 15 por 100 de gelosa, y se dispone en superficie muy delgada en vasos de fondo plano, encima de los cuales circula una corriente de aire desprovista de nitrógeno combinado. En estas condiciones el microbio fija el nitrógeno gaseoso destruyendo correlativamente cierta cantidad de azúcar. La simbiosis con un vegetal no es, pues, necesaria para explicar la fijación de este nitrógeno.

Mazé supone, partiendo de sus análisis y de las comparaciones que ha deducido de otros vegetales, que la planta deberá suministrar al bacilo 100 gr. de fécula para recibir en cambio 1 gr. de nitrógeno. La relación que existe entre el nitrógeno combinado y el azúcar suministrado al microbio influye en el resultado final: la que da el mejor rendimiento es la de $\frac{1}{200}$.

Desde el principio de sus experimentos, Mazé observó una abundante mucosidad que se forma en el vaso de cultivo. Esta no resulta de una transformación isomérica del azúcar. Existe una estrecha relación entre la cantidad de nitrógeno fijado y la abundancia de esta materia en los cultivos. Esta substancia es soluble en el agua; pasa al través de las membranas y no existe en las nudosidades. El autor la considera como una materia nitrogenada procedente de la fijación del nitrógeno libre y que sirve de lazo de unión entre la planta y su huésped.

El microbio de las nudosidades radicales presenta una gran variedad de formas en los medios artificiales. Cuando se examina el contenido de los tubérculos agotados, no se encuentran más que formas bacilares o formas redondas, que no tienen ningún lazo aparente de parentesco con las formas ramificadas de los tubérculos jóvenes. Sus funciones cambian con la desaparición del líquido nutritivo y, de fijadores de nitrógeno, pasan a ser consumidores del mismo (Mazé).

Cultivos análogos a los precedentes, puestos en una atmósfera de nitrógeno absolutamente puro, no manifiestan desarrollo: sin embargo, las bacterias siguen vivas. Se deduce de esto que el microbio fijador es esencialmente *aerobio*.

Según Gino de Rossi (1910), el microorganismo de las nudosidades no fijaría el nitrógeno atmosférico en los medios *artificiales*. Los resultados contrarios, tales como los que acabamos de mencionar, provendrían de una impureza de los cultivos, donde se encontrarían accidentalmente microbios del suelo fijadores de nitrógeno (?).

Inoculaciones artificiales de las raíces de las leguminosas.—Se deben a Bréal (1888) los primeros experimentos de inoculaciones. Estos experimentos han dado interesantes resultados, aun cuando no fueron hechos con cultivos puros, desconocidos en la época de estas investigaciones. Estas completan muy afortunadamente los notables trabajos de Hellriegel y Wilfarth.

Según Bréal, de todas las partes de una leguminosa, los tubérculos son las más ricas en nitrógeno. Así, para 100 partes de materia seca, los tubérculos del *Robinia* contienen

3,25 por 100 de nitrógeno, los del *guisante* 2,68, los del *altramuz* 3,30, los de las *judías*, después de la florescencia, 4,60, los de la *lenteja* 7,0. Únicamente las semillas y los hongos contienen una proporción de nitrógeno tan elevada.

Se hacen germinar guisantes en un líquido nutritivo exento de nitrógeno, y se pista en el líquido un tubérculo de alfalfa: poco tiempo después de esta operación, las raíces se cubren de tubérculos: el vegetal adquiere una altura de 70 cm. después de haber dado flores. La proporción de nitrógeno que contiene en estado adulto es muy superior a la de su semilla. Las bacterias de la alfalfa se han multiplicado y han infectado las raíces del guisante. Dos semillas de altramuz germinan al mismo tiempo: se pincha la raíz de una de ellas con una aguja que se ha introducido primero en un tubérculo de alfalfa, y las dos plantitas echan raíces una al lado de otra en arena. La planta inoculada se desarrolla normalmente, y da flores y frutos; la otra permanece endeble y no fija nitrógeno. La primera, por el contrario, contiene dos veces y media más nitrógeno que su semilla.

Además, en diversos experimentos, las leguminosas han ejercido una acción manifiesta sobre la fijación del nitrógeno en el suelo.

Beijerinck (1890) demostró, poco después, que las habas, plantadas en arena esterilizada adicionada de las materias minerales necesarias (menos nitrógeno), podían ser inoculadas con éxito con el organismo aislado por él de los tubérculos de las habas. Las raíces de las plantas testigos no inoculadas no presentaban tubérculos.

El mismo autor ha observado que aparecen los tubérculos al cabo de unos diez días después de haber pinchado una raíz con una aguja previamente introducida en un tubérculo radical. La inoculación requiere de dos a cuatro días más si no se hiere la raíz, limitándose a mezclar los gérmenes con el líquido de cultivo. Todavía se necesita más tiempo si se mezcla tierra desleída a este último líquido: el microbio, en estado de reposo en el suelo, debe evolucionar antes de infectar las raíces.

La inoculación así practicada no siempre da resultados; los gérmenes deben ser tomados de nudosidades pertenecientes a plantas cuya vegetación no esté demasiado avanzada (en general antes de la florescencia).

El microbio de las nudosidades puede propagarse durante largo tiempo: se tomará el material de siembra de nudosidades jóvenes, y se inoculará a raicillas jóvenes.

Diversos experimentos de inoculación. — Especificación de las diferentes especies de microbios. — A Nobbe y a sus discípulos (1890-1891) se deben algunos

experimentos prácticos de inoculación, en alto grado interesantes para la agricultura. Estos autores han tratado de resolver la cuestión siguiente: ¿es una sola y única bacteria la que produce siempre las nudosidades? ¿esta propiedad corresponde a varias especies? Se ha experimentado con seis especies de leguminosas. El suelo era una mezcla de arena cuarzosa con 5 por 100 de turba pulverizada, adicionada de carbonato cálcico. La solución mineral nutritiva contenía cloruro potásico, fosfato potásico y sulfato magnésico. El suelo, las semillas y el agua de riego fueron previamente esterilizados. La tierra empleada para la inoculación era una tierra en que se habían cultivado durante muchos años plantas semejantes a las plantas en que se quería efectuar la inoculación.

Todas las plantas inoculadas con éxito contienen gran número de tubérculos radicales; éstos se encuentran casi exclusivamente en las partes superiores del suelo. Los guisantes, por ejemplo, dan el máximo de cosecha y de fijación de nitrógeno *cuando han sido inoculados con un cultivo puro de bacterias de guisantes.* Un cultivo puro de bacterias de altramuz no dió, después de inoculado en los guisantes, más que la mitad de las cifras que había dado el cultivo puro de bacterias de guisantes.

Resulta igualmente de estos experimentos que tierras diferentes desleídas ejercen una influencia muy desigual en las diversas leguminosas estudiadas. Se comprende que las inoculaciones hechas con tales infusiones den a menudo resultados inciertos.

Hemos dicho que las nudosidades radicales se encuentran en las capas superiores del suelo, aproximadamente en el tercio superior del cuerpo libre de la raíz: las raíces profundas no las contienen. También una inoculación tardía generalmente no da ningún resultado; porque las raíces jóvenes, fáciles de infectar, se desarrollan entonces a mayor profundidad en el suelo. Se puede suponer que las bacterias resisten al arrastre por el agua y que se adhieren con energía a las partículas térreas. Por otra parte, es posible inocular las raíces profundas haciendo llegar a un nivel conveniente el

líquido cargado de bacterias. Mientras tanto estén provistas de pelos radicales, las raíces jóvenes pueden ser infectadas. Cuando se examina la repartición de los tubérculos radicales en la raíz de una planta inoculada, se puede observar en qué lado del vaso se ha vertido el líquido cargado de bacterias (Beijerinck).

Lo que precede explica igualmente el hecho de que una leguminosa dada pueda ser inoculada con bacterias de otras leguminosas. El guisante, por ejemplo, es inoculable con las bacterias de los guisantes, las habas, las arvejas, las acacias, los *Lotus,* los tréboles (Beijerinck). Sin embargo, muchas leguminosas no son inoculables más que por un corto número de plantas congéneres pertenecientes sólo a géneros muy próximos. De todos modos, la *naturaleza* del suelo desempeña con frecuencia aquí un papel importante: volveremos a ocuparnos en este asunto.

Diferencias que presentan entre sí los microbios de las nudosidades radicales. — Las dimensiones y el número de los tubérculos varían en las diversas leguminosas. Los mismos microbios que viven en las nudosidades presentan diferencias en su tamaño y en su forma, que puede ser simple o ramificada. En una misma especie los caracteres permanecen bastante constantes. Cuando se observan excepciones en la naturaleza, debe pensarse que una especie de microbios que ha vivido en una planta determinada conserva sus caracteres especiales cuando infecta a otra planta, a lo menos durante cierto tiempo. Según Laurent (1891), estas diferencias, sin embargo, son poco marcadas, y no existiría más que un tipo específico.

La existencia de *razas* microbianas parece, con todo, resultar de algunas observaciones como la siguiente: en un jardín botánico, las raíces de la *Soja hispida* no presentaban tubérculos, aun cuando, en sus inmediaciones, los contuviesen muchas leguminosas. La ausencia de la variedad microbiana propia de la *Soja* era probablemente la causa de esta anomalía. Una tierra del Japón en que se cultivaban *Sojas* fué esparcida en el suelo provisto de plantas exentas de tubérculos: las nuevas *Sojas* cultivadas presentaron entonces numerosos tubérculos (Kirchner). Según Zipfel, las bacterias de las nudosidades no constituyen variedades de una sola y única especie, sino que representan especies diferentes, bien distintas unas de otras. Algunas leguminosas que contienen abundancia de tubérculos en su país de origen, se desarrollan normalmente a menudo en otro país, y sus raíces están completamente exentas de nudosidades.

Los organismos que permanecen en el suelo conservan de un año para otro sus propiedades y continúan viviendo en la misma leguminosa. ¿Es absoluta la especificación de las bacterias radicales? Creemos que hay que guardarse actualmente de una exageración en este sentido. Del mismo modo, no conviene apresurarse en afirmar que no existen más que dos *grupos* de bacterias: el de los terrenos ácidos y el de los terrenos calcáreos. He aquí la opinión de Mazé a que aludimos. Los caracteres de raza pueden desaparecer progresivamente en el suelo; dada una bacteria que vive normalmente en simbiosis con las raíces de una leguminosa determinada, se puede producir la degradación de esta especie hasta tal punto que se le hará perder, pasando reiteradamente por medios nutritivos, hasta el poder de producir nudosidades en la misma especie vegetal en que normalmente habitaba. La influencia del *medio* es aquí muy grande. Las bacterias que viven en medio *calcáreo* son capaces de invadir todas las plantas calcícolas indígenas; recíprocamente, las que viven en los terrenos ácidos pueden infectar las leguminosas de los terrenos ácidos (aulaga, retama, altramuz). No existirían, pues, razas adaptadas estrechamente a una determinada especie vegetal; no se trataría más que de formas fisiológicas, de propiedades variables, en las cuales es preponderante la influencia del medio. Las bacterias de las leguminosas deberían clasificarse en dos grandes grupos: las de los terrenos ácidos y las de los terrenos calcáreos.

Citemos el siguiente experimiento en que se apoya Mazé para justificar la distinción que ha hecho: habiendo cultivado durante ocho meses, en medios de acidez creciente, una bacteria aislada de una planta calcícola, el autor la inoculó en seguida en el altramuz; esta bacteria determinó la formación de nudosidades en las raíces de esta planta. Así, una bacteria de una planta calcícola puede infectar las raíces de una planta calcífuga.

A pesar de la originalidad de estas ideas, se puede afirmar que cada día las contradicen muchas observaciones (véanse más adelante los hechos señalados sobre este tema por Dehérain y Demoussy).

El microbio de las leguminosas respecto de otros vegetales.—Schneider intentó inocular el microbio de las leguminosas en las gramíneas. Este autor ha llegado a hacer desarrollar las bacterias de un tubérculo de *Melilotus alba* en caldo de maíz. Este caldo fué vertido en vasos en que se desarrollaban plantas jóvenes de maíz y de avena. Las raíces de estas dos plantas no presentaban nudosidades al cabo de un mes; sin embargo, las raíces del maíz estaban invadidas por el microorganismo, las de la avena estaban indemnes.

Mecanismo de la fijación del nitrógeno gaseoso.—En este punto quedamos reducidos a conjeturas. Los bacteroides que llenan los tejidos del tubérculo afectan una disposición reticular, como han demostrado Prazmowski, Frank, Nobbe y Hiltner. Es, pues, posible que, en la fijación del nitrógeno por intermedio de los tubérculos radicales, ocurra un fenómeno análogo al de la respiración animal, y sobre todo al de la respiración branquial. Los bacteroides, en virtud de su disposición especial y de su modo particular de agrupación, ofrecen, al medio que contiene el nitrógeno gaseoso, una superficie considerable. Ha sido emitida la siguiente hipótesis, que requeriría una sanción experimental. El agua, absorbida por las plantas y desprendida por evaporación, cede a las plantas el nitrógeno que ha disuelto. Sabido es que se forman tubérculos en las raíces de las leguminosas desarrolladas en una solución acuosa exenta de nitrógeno combinado; pero, la eficacia de estos tubérculos, respecto del crecimiento de las plantas, es mucho menos marcada que cuando la planta vive en un medio sólido. En los cultivos en un medio líquido, en efecto, la circulación del nitrógeno se efectúa con menos rapidez que en los espacios capilares del suelo.

La región de los pelos absorbentes ejerce una atracción manifiesta sobre el microbio de las nudosidades: esto es lo que resulta de los experimentos de Mazé, efectuados introduciendo en los cultivos puros de estos microbios raíces provistas o no de pelos absorbentes. Esta atracción parece debida a la presencia, en la región de los pelos, de ciertos hidratos de carbono. Algunos de éstos ejercen, en efecto, una acción *quimiotáxica* muy viva sobre las bacterias radicales. Mazé opina que, si la leguminosa encuentra en el suelo una cantidad suficiente de nitrógeno en forma de nitratos para transformar en substancias cuaternarias los hidratos de carbono que ha formado la función clorofiliana, deja de producirse la acumulación de éstos en los pelos absorbentes, y no encontrando ya causa de atracción, el microbio fijador de nitrógeno no formará nudosidades en las raíces.

Esta explicación daría cuenta del siguiente hecho, frecuentemente observado: cuando una leguminosa se desarrolla en un terreno rico en nitratos, absorbe éstos, como lo haría un vegetal ordinario, y los transforma en albuminoides. En este caso, las raíces no llevan nudosidades, y la proporción del nitrógeno asimilado por la planta está en relación directa con la riqueza del suelo en ácido nítrico. La simbiosis bacteriana no se efectuaría, conforme con antiguas observaciones, más que en los suelos pobres en compuestos nitrogenados o que virtualmente estuviesen desprovistos de ellos.

Influencia de las sales minerales en la aparición de los tubérculos.—La presencia de los nitratos contraría la producción de las nudosidades. Esta acción antisimbiótica no es en modo alguno específica; se extiende a todas las sales nutritivas solubles

del suelo, cuyo poder osmótico incomoda sin duda al microbio fijador y dificulta su evolución. Los nitratos alcalinos impiden, en la proporción de $\frac{1}{10000}$ en cultivo acuoso, la formación de las nudosidades en el *guisante;* las sales amoniacales ejercen una acción análoga en la proporción de $\frac{1}{1000}$, las de potasio en la proporción de $\frac{1}{200}$, las de sodio en la proporción de $\frac{1}{300}$. Las sales cálcicas y magnésicas favorecen claramente la producción de las nudosidades (Em. Marchal, 1901).

Las concentraciones salinas acabadas de citar son generalmente muy superiores a las que de ordinario se encuentran en la tierra de labor. La presencia de fosfatos acelera la producción de las nudosidades radicales (Laurent). Según este último autor, la presencia de abonos nitrogenados favorecería la salida de tubérculos radicales en las *habas,* mientras que los mismos abonos paralizarían su formación en las demás leguminosas. *Guisantes* que, desde cinco años, crecían en un terreno que había recibido cantidades excesivas de abonos nitrogenados (sulfato amónico, nitratos), no presentaban ya indicios de simbiosis microbiana.

Aun cuando las raíces de estos vegetales no presenten ya nudosidades, la tierra en que penetran sus raíces contiene todavía el microbio fijador de nitrógeno: en efecto, basta añadir un poco de esta tierra, tomada a 0,25 m. de la superficie, a guisantes cultivados en suelo estéril, para provocar en sus raíces la aparición de nudosidades (Laurent).

Si se cultiva *trébol* en tres suelos: uno desprovisto de calcáreo, el segundo pobre en esta substancia y el tercero muy rico en ella, se observa que la ganancia en nitrógeno no ocurre más que en las plantas cultivadas en la tierra rica en calcáreo (Passerini).

Tubérculos radicales encontrados en plantas no leguminosas.—Muchos vegetales del género *Alnus* (*Alnus glutinosa* principalmente) presentan tubérculos en sus raíces. Estos tubérculos contienen un hongo simbiótico. Nobbe y Hiltner consideran que este *Alnus* puede fijar nitrógeno gaseoso. Según estos mismos sabios, los tubérculos radicales de los *Eleagnus,* en cuyo interior se ha encontrado un hongo próximo al que vive en los *Alnus,* pueden asimilar el nitrógeno libre. Lo mismo ocurriría con los tubérculos del *Podocarpus chinensis.* De todos modos, esta opinión ha sido recientemente combatida, y los micorrizas del *Podocarpus* no servirían más que para la absorción de las materias húmicas.

IV

ASIMILACIÓN DEL NITRÓGENO GASEOSO POR CIERTAS ALGAS

Existen algas, comunes en muchos suelos, que son capaces, con el concurso de ciertas bacterias, de asimilar el nitrógeno libre de la atmósfera.

Esta asimilación había sido sospechada hace ya mucho tiempo. Frank llamó, en 1888, nuevamente la atención sobre este hecho, sin dar de él ciertamente una demostración directa. En la misma época, Gautier y Drouin creyeron que se podía explicar la fijación del nitrógeno gaseoso en la tierra vegetal, y aun en suelos completamente desprovistos de materia orgánica, por la intervención de ciertos microorganismos unicelulares aerobios, y especialmente de ciertas algas.

Esta fijación, puesta fuera de duda por ulteriores investigaciones, como vamos a decir, es muy interesante. Permite explicar de una manera satisfactoria los resultados contradictorios obtenidos por muchos observadores relativamente a la fijación del nitrógeno gaseoso por un suelo sin plantas. Mientras que la mayoría negaba, conforme con la opinión de Boussingault, la posibilidad de esta fijación directa, otros, en presencia de análisis muy correctos, hacían constar la evidencia de esta fijación. Es muy probable que, en este último caso, intervenían algas, más o menos visibles a simple vista, y que la fijación del nitrógeno en este suelo se efectuaba por su mediación.

He aquí la reseña de las investigaciones más importantes hechas sobre este tema.

Frank, en 1891, pone en matraces arena blanca calcinada que adiciona de una solución nutritiva exenta de nitrógeno y que siembra de algas verdes unicelulares. Éstas pronto cubren la superficie de la arena, la cual fija cierta cantidad de nitrógeno. En la misma época Schlœsing hijo y Laurent se

sirven del procedimiento de cultivo debajo de campana que ellos emplearon en sus investigaciones sobre la fijación del nitrógeno por las leguminosas, para averiguar, mediante exactas mediciones gasométricas, si otras plantas serían también capaces de tomar su nitrógeno de la atmósfera. Aquí el suelo ya no es arena calcinada, sino una tierra natural, poco rica en nitrógeno, provista de diversos organismos vivos que se encuentran en las buenas tierras.

En una primera serie de ensayos, se ensayaron el *topinambur*, la *avena*, el *tabaco*, el *guisante*, así como tres suelos testigos no sembrados de organismos. En todos estos experimentos, exceptuando los dos últimos suelos testigos, hubo desaparición en las campanas de cierta cantidad de nitrógeno gaseoso, más o menos considerable, pero siempre superior a los errores analíticos. La superficie de todos estos suelos se había recubierto poco a poco de plantas verdes inferiores, mezcla de musgos y algunas algas. Uno de los suelos testigos se recubrió de esta vegetación criptogámica y se enriqueció notablemente en nitrógeno. Solo, no habría manifestado ganancia alguna, como lo demuestran los análisis de los dos testigos no cubiertos de vegetación.

Se aisló, en el primer testigo cubierto de una capa verde, la capa superficial, de algunos milímetros de espesor, así como la capa subyacente: ésta no había ganado en nitrógeno; el nitrógeno no se había fijado más que en la parte superficial habitada por los vegetales verdes.

Si se elimina la influencia de las plantas verdes inferiores recubriendo la superficie de los vasos de ensayo con una capa de arena cuarzosa calcinada, no aparece ningún indicio de materia verde y, exceptuando el vaso en que se hallan los *guisantes*, no se observa ninguna absorción de nitrógeno gaseoso. Las plantas sometidas al ensayo fueron la *avena*, la *mostaza*, los *berros* y la *aspérgula*.

Los suelos desnudos, es decir, desprovistos de vegetación aparente, no fijan, pues, el nitrógeno gaseoso, aun cuando estén provistos de los seres microscópicos que se hallan en las buenas tierras.

Poco después, Schlœsing hijo y Laurent observaron que un suelo provisto de algas, principalmente del género *Nostoc,* fijaba notables cantidades de nitrógeno. Por el contrario, un suelo que contenía un cultivo casi puro del *Microcoleus vaginatus* no había fijado nitrógeno. Tal vez, como hacen observar los autores, esta pureza es desfavorable a la fijación y ésta no se efectúa más que con el concurso de muchos seres. Desde el punto de vista práctico estos experimentos son muy importantes.

¿Actúan *solas* las algas? Esto es lo que vamos a examinar. En todos los casos, la entrada en combinación del nitrógeno libre así absorbido ha podido encontrar en la acción clorofiliana la energía que le es necesaria.

Algas no verdes *(Alternaria tenuis, Gymnoascus),* cultivadas en caolín adicionado de azúcar y de cierta cantidad de líquido de Cohn exento de nitrógeno, determinan también una importante fijación de nitrógeno (Berthelot).

No fijación de nitrógeno por cultivos puros de algas; necesidad de una simbiosis. – En lo que precede hemos demostrado la realidad de la fijación del nitrógeno por organismos inferiores. Kossowitsch (1894) se ha dedicado a emplear para esta demostración solamente especies puras. Estos nuevos experimentos ponen de manifiesto el singular hecho de la no fijación de nitrógeno *cada vez que el alga no está en simbiosis con las bacterias del suelo.*

El medio empleado es la sílice gelatinizada: la adición de azúcar al líquido mineral nítrico, exento de nitrógeno, a veces es indispensable. En ausencia de nitratos, los géneros *Chlorella, Cystococcus, Stichococcus,* cultivados en estado de pureza, no se desarrollan. Tan pronto como a estos cultivos se añaden algunos centímetros cúbicos de una solución nitratada, la capa de algas se colorea de verde. El *Microcoleus vaginatus* se comporta de la misma manera. Se puede, pues, deducir ya que, *en estado de pureza,* muchas algas no pueden fijar directamente el nitrógeno gaseoso.

Lo mismo ocurre cuando a estos cultivos puros se añade un indicio de tierra vegetal: las algas que hasta entonces eran incapaces de fijar el nitrógeno gaseoso, y no tomaban este elemento más que de los nitratos, se enriquecen ahora en nitrógeno, sin que sea posible atribuir a un organismo particular esta propiedad fijadora.

Sin embargo, según Kossowitsch, existiría una relación entre la presencia de las algas y la fijación del nitrógeno, en el sentido de que éstas serían capaces, pero sólo a la luz, de suministrar a las

bacterias fijadoras los hidratos de carbono que han elaborado por la función clorofiliana. Existiría, pues, entre las algas y ciertas bacterias, una simbiosis: las bacterias, fijadoras de nitrógeno, tomarían su alimentación hidrocarbonada de los productos de la asimilación de las algas. Esta opinión es tanto más aceptable en cuanto se sabe desde hace mucho tiempo que las leguminosas provistas de nudosidades radicales no fijan nitrógeno en la obscuridad.

Aun cuando la función clorofiliana interviene de una manera activa, la presencia del azúcar, es decir, de un hidrato de carbono en los líquidos de cultivo donde se desarrolla el alga asociada con las bacterias, exalta esta fijación.

Las investigaciones de Kossowitsch sobre la simbiosis de las algas y las bacterias, han sido confirmadas por Krüger y Schneidewind (1900): las algas de los géneros *Stichoccocus*, *Chlorella*, *Chlorothecium*, en cultivo puro, no fijan nitrógeno. Estas algas toman su alimentación nitrogenada, ya al nitrógeno mineral, ya al nitrógeno orgánico que se pone a su disposición.

El *Cystococcus humicola* se comporta del mismo modo (Charpentier).

De todos modos, dos algas, *Schizothrix lardacea, Ulothrix flaccida,* no pueden crecer en soluciones nutritivas exentas de nitrógeno, *aunque sea en presencia de las bacterias del suelo*. El *Nostoc punctiforme,* por el contrario, asociado con las bacterias de la tierra de labor, y cultivado con las dos algas precedentes, se desarrolla muy bien y fija una proporción de nitrógeno comparable a la que fijan las leguminosas (3,1 a 3,3 por 100) [Bouilhac].

(Véase, además, sobre esta materia, nuestra *Química del suelo,* página 426.)

Consecuencias prácticas de la fijación del nitrógeno por las algas en simbiosis con las bacterias del suelo. —Bouilhac y Giustiniani (1903) han intentado demostrar que la simbiosis de ciertas algas con las bacterias del suelo podía, hasta cierto punto, reemplazar a los abonos nitrogenados. El suelo en que se hizo el ensayo era arena de Fontainebleau adicionada de sales minerales, sin nitrógeno, y carbonato cálcico. Cuatro macetas, de las cuales sólo dos recibieron una mezcla de *Nostoc punctiforme* y *Anabaena* recubiertos de bacterias, fueron puestas en observación. Al cabo de seis semanas se determinó el nitrógeno de cada una de estas macetas. Las que habían sido sembradas contenían, por término medio, 0,037 gr. de nitrógeno; las dos testigos no contenían más que 0,004 gramos.

Para averiguar en qué medida el nitrógeno así fijado puede contribuir al desarrollo de una planta superior, se tomaron cuatro grandes macetas que se llenaron con 10 kilogramos de la arena antes citada adicionada de las mismas sales minerales, y se plantó en ella *alforfón*. La maceta número 1 fué escogida como testigo; las macetas 2 y 3 recibieron una pequeña cantidad de algas y bacterias y un poco de tierra desleída. Al cabo de seis semanas, estando las macetas al aire libre y habiéndolas regado regularmente, se observó que las algas se habían desarrollado bien y que, en las macetas 2 y 3, el alforfón alcanzaba una altura que variaba entre 30 y 42 cm., mientras que el de la maceta número 1 no pasaba de 10 cm. El resultado del análisis fué el siguiente:

	Materia seca gr.	Nitrógeno de las cosechas gr.
N.° 1 (testigo)	1,10	0,02924
N.° 2	3,75	0,07155
N.° 3	7,10	0,12727

Así, el enriquecimiento del suelo en nitrógeno, gracias a la presencia de las algas y de las bacterias, ha aprovechado inmediatamente al alforfón.

Otras plantas: *maíz, mostaza blanca, mastuerzo,* dan resultados del mismo orden.

La materia nitrogenada producida por la simbiosis algas-bacterias parece fácilmente difusible: lo que explica el rápido desarrollo de los vegetales cultivados en las condiciones que se acaban de exponer.

V

ENSAYOS DE INOCULACIÓN DEL SUELO CON EL EMPLEO DE CULTIVOS PUROS DEL MICROBIO DE LAS LEGUMINOSAS.—NITRAGINA

Si muchos suelos contienen bacterias fijadoras de nitrógeno, en cambio hay otros que no las contienen. Como resultado de los trabajos de Hellriegel y Wilfarth, se tuvo la idea

de esparcir en ciertos suelos destinados al cultivo de las leguminosas una pequeña cantidad de una tierra en que se habían cultivado durante muchos años estas mismas plantas. Se creía que este esparcimiento de tierra debía introducir una cantidad suficiente de bacterias fijadoras de nitrógeno. Pero, si bien esta inoculación del suelo ha dado a veces resultado, y se ve que las raíces de las leguminosas se recubren de nudosidades, lo que generalmente ocurre es que esta siembra fracasa por completo.

A partir de la época en que Nobbe y sus discípulos introdujeron en la ciencia la noción de la especificación de los microbios fijadores, se creyó que el *cultivo artificial* de bacterias puras, adaptadas exclusivamente a una leguminosa determinada, podía prestar grandes servicios. Estos cultivos, preparados industrialmente, son conocidos con el nombre de *nitragina*. Se presentan en forma de gelatinas, que basta desleír en el agua para su uso. Se rocían las semillas que se quieren inocular con esta disolución, o bien se riega con ellas directamente el suelo en que se desea sembrar la semilla. La mayor parte de los ensayos intentados con la nitragina han dado resultados inciertos, y aun nulos.

Cuando la nitragina ha resultado favorable, los cultivos empleados eran recientes. En efecto, al cabo de cinco meses, los cultivos artificiales no conducen más que a fracasos. Una primera estadística de Nobbe indica 27 éxitos para 100 inoculaciones; otra estadística de Frank, hecha algunos años después, indica 33 éxitos para 100 inoculaciones. Solamente las tierras nuevamente sometidas al cultivo dan resultados favorables.

Experimentos hechos en los Estados Unidos indicarían una proporción de éxitos mayor, o sea 51 por 100. Según Hiltner, los cultivos de *altramuz* y de *Ornithopus sativus* dan los mejores resultados después de la inoculación.

El fracaso del empleo de la nitragina puede ser atribuído al procedimiento de cultivo usado en la industria. En efecto, la vitalidad de las bacterias aplicadas con los cultivos artificiales hechos en gelatina, medio muy distinto del de la tierra de labor, es muy inferior a la de las bacterias que viven normalmente en el suelo. Ciertamente, después se ha substituído la gelatina por la sílice gelatinosa.

Nobbe y Hiltner han recomendado diluir el cultivo de nitragina comercial, no con agua sola, sino con agua que contenga ciertas substancias salinas. El agua destilada puede matar completamente las bacterias radicales: la misma agua de fuente puede ser perjudicial. Las substancias salinas cuyo empleo sería más favorable son una mezcla de sulfato magnésico, fosfato potásico y fosfato amónico.

Generalmente, según hemos dicho, el efecto de la nitragina es problemático. La mayor parte de los suelos, adicionados o no de esta substancia, producen leguminosas que tienen nudosidades radicales: el rendimiento es el mismo en los dos casos.

En resumen, en las tierras muy pobres en nitrógeno y, por consiguiente, en materia orgánica, la nitragina ofrece a veces algunas ventajas. De todos modos, es indispensable que el suelo contenga en suficiente proporción los elementos salinos que requieren todas las plantas, y en particular las leguminosas, es decir, una buena proporción de cal y de potasa. En los suelos ácidos, la inoculación fracasa, como también muy a menudo en los suelos demasiado ricos en calcáreo. La difusión de las bacterias fijadoras por el aire y el agua parece ser regla general. Por lo tanto, casi todos los suelos deben contenerlas. Si su acción bienhechora no se da a conocer, es que la *reacción del medio* no les es favorable. En las tierras ácidas, por ejemplo, si las bacterias fijadoras son raras o poco eficaces, se puede despertar su vitalidad por la adición de calcáreo, como han demostrado Dehérain y Demoussy, y así se vuelve a las conclusiones que había formulado Mazé y que antes hemos citado: no existirían bacterias estrictamente adaptadas a una determinada especie vegetal; no existiría más que una serie de formas fisiológicas dotadas de propiedades variables adquiridas bajo la influencia del medio en que se desarrollan. Solamente nuevos experimentos pueden enseñar si ésta es la última palabra en este asunto.

Si se adoptasen estas ideas habría, pues, motivo para cultivar en medios artificiales *diferentes en cuanto a su reacción*, las bacterias de las tierras ácidas y las de las tierras alcalinas.

Todo lo que se puede afirmar es que sería temerario, actualmente, condenar sin apelación el empleo de la nitragina o considerarlo como una panacea en el cultivo de las leguminosas.

Alinita.—Un agrónomo alemán, Caron (de Ellenbach), anunció, en 1895, que había aislado del suelo un microbio fijador de nitrógeno en los cereales. Este microbio, inoculado en semillas de cereales, y aun en la mostaza, determinaba un aumento considerable de la cosecha. El autor le dió por de pronto el nombre de *Bacillus Ellenbachensis*. Los cultivos artificiales de este microbio, preparados industrialmente en grande escala, recibieron el nombre de *alinita*.

Este microbio, considerado como próximo al *Bacillus mycoides* o al *Bacillus megaterium*, ha sido identificado con este último por Stoklasa. Según este experimentador, este microbio sería un fijador de nitrógeno, pero su papel especial consistiría sobre todo en solubilizar en alto grado el nitrógeno orgánico contenido en el suelo, principalmente el de la turba. Estudiado nuevamente por muchos sabios, el *B. megaterium* ha demostrado ser desnitrificante, pero incapaz de fijar el nitrógeno gaseoso. De todos modos, descompon-

dría activamente el nitrógeno orgánico, que transformaría en aminas y amoníaco. Su acción bienhechora no se haría sentir más que en los suelos cargados de humus: sería poco apreciable en una tierra de labor ordinaria, y nula en los suelos silíceos desprovistos de materia orgánica (Malpeaux).

En resumen, la acción del *B. megaterium* se limitaría a destruir el nitrógeno albuminoide y a poner al alcance de las plantas una forma de nitrógeno menos compleja que esta forma primitiva. Por otra parte, muchas otras bacterias que viven en el suelo parecen gozar de la misma propiedad. En realidad, el empleo de la alinita no ha dado más que resultados negativos en la mayoría de los casos.

Terminemos esta reseña haciendo notar que la fijación directa del nitrógeno atmosférico por muchas plantas fanerógamas, distintas de las leguminosas, tiene todavía partidarios, entre los cuales deben citarse principalmente Mameli y Pollacci (1909, 1911). Jamieson (1905) había atribuído a ciertos pelos de especial estructura, situados en los tallos y en las hojas de plantas de hojas anchas y blandas, un papel capital en la absorción del nitrógeno. Según él, en la extremidad de estos pelos se efectuaría la síntesis directa de los albuminoides. Pero, Kny (1909) y Kövessi (1909, 1911) no han podido confirmar estos resultados.

Llegamos ahora, al terminar este estudio sobre la absorción del nitrógeno gaseoso, a la conclusión de que ciertos vegetales verdes toman *directamente* el nitrógeno elemental de la atmósfera, y que en contacto con los principios ternarios, elaborados por la función clorofiliana, transforman, por un mecanismo desconocido, este nitrógeno en substancias cuaternarias complejas, de peso molecular muy elevado. No se produce, en este fenómeno sintético, ni amoníaco, ni ácido nítrico: los términos primordiales de esta unión del nitrógeno con los hidratos de carbono nos escapan completamente.

Veremos, a propósito de la nutrición nitrogenada de los vegetales por medio de los nitratos, cómo se puede intentar explicar la entrada del nitrógeno mineral en una combinación orgánica.

VI

NUTRICIÓN NITROGENADA DE LOS VEGETALES A EXPENSAS DEL AMONÍACO GASEOSO

El aire contiene siempre indicios de amoníaco. Schlœsing ha encontrado, por término medio, que 100 m³ de aire contenían 0,0023 gr. de amoníaco (experimentos hechos en París en el mes de julio de 1876). El amoníaco es, por lo demás, muy difusible, y no ha sido encontrado en estaciones elevadas.

Durante largo tiempo se hizo desempeñar a este gas un importante papel en la nutrición nitrogenada de los vegetales. Es cierto que el suelo puede absorber el amoníaco atmosférico, pero no es menos verdad que el suelo también puede desprender amoníaco por efecto de fenómenos de descomposición de la materia nitrogenada atribuíbles a las acciones microbianas.

Admitamos que el suelo absorba amoníaco: éste, si las condiciones de la nitrificación están realizadas, se convertirá en ácido nítrico, es decir, en nitrato cálcico, en contacto con el calcáreo que contiene toda tierra susceptible de nitrificar. Los vegetales se apoderarían del nitrato cálcico: este modo de nutrición nitrogenada será examinado luego.

Pero, el amoníaco que circula en la atmósfera puede llegar también a ponerse en contacto con las partes aéreas de las plantas, y hay que preguntar si las hojas, especialmente, son o no capaces de absorber y utilizar esta forma del nitrógeno para la síntesis de los numerosos compuestos nitrogenados que ellas contienen.

Absorción del amoníaco por las hojas.—La presencia del gas amoníaco en el aire fué reconocida primero por Th. de Saussure, quien le asignó un papel en la disolución del humus y de las mate-

rias orgánicas contenidas en el suelo. A Stöckhardt (1859) se deben las primeras investigaciones sobre la acción directa y favorable que ejerce este gas respecto de los vegetales, si bien que Davy, cincuenta años antes, ya había presentido esta acción.

Poco después Sachs tuvo la idea de separar la parte aérea de la planta de la parte subterránea encerrando la parte aérea en una campana destinada a aislarla del aire y del suelo, a fin de ver si los resultados favorables obtenidos por Stöckhardt eran imputables a la absorción del amoníaco por la parte aérea del vegetal. Se hicieron dos experimentos comparativos, tomando las judías como plantas de ensayo. La atmósfera de una de las campanas recibía cada día aire enriquecido con 4 a 5 por 100 de gas carbónico; la otra campana recibía además una pequeña cantidad de carbonato amónico en vapor. Sachs llega a la conclusión de que el amoníaco es asimilado por las hojas; hay aumento de peso de la materia seca de la planta, de la proporción de sus cenizas y del nitrógeno.

Schlœsing (1874) cultiva dos plantas de la misma especie (tabaco) en condiciones idénticas, con la única diferencia de que una desarrolla sus hojas en una atmósfera provista de vapores amoniacales, y la otra en una atmósfera exenta de ellos. La parte aérea de la planta estaba completamente separada del suelo. Se ponía en el fondo de uno de los recipientes situados en el suelo, que sostenían la campana en que se hallaba la planta, una solución de sesquicarbonato amónico, que era renovada cada día. Al cabo de un mes y medio se encontró que la primera cosecha (campana con amoníaco) pesaba 146,9 gr., la segunda 139 gr. La primera contenía 2,22 por 100 de nitrógeno, la segunda 1,77. El amoníaco ha sido, pues, absorbido. Ha servido para la producción de albuminoides, porque no se halla en la planta, ni en su estado primitivo, ni en estado de ácido nítrico. La proporción de la nicotina no parece haber sido modificada. La absorción del amoníaco ha aprovechado a todo el vegetal, como lo demuestran las determinaciones del nitrógeno en las diferentes partes de la planta.

En la misma época, A. Mayer efectuaba ensayos mediante el método de cultivo en soluciones artificiales provistas de todas las sales minerales indispensables, menos el nitrógeno. Mayer ha hecho experimentos en las cinco condiciones siguientes: 1.ª, al aire libre; 2.ª, en el aire que contenía vapores amoniacales; 3.ª, en una atmósfera desprovista de amoníaco; 4.ª, humedeciendo con agua pura las hojas de las plantas; 5.ª, humedeciendo las hojas con una solución muy diluída de carbonato amónico. De los ensayos por él practicados (col, guisantes, trigo), Mayer deduce que los órganos verdes de los vegetales superiores tienen la facultad de asimilar el carbonato amónico gaseoso o disuelto en el agua. Esta absorción no es un fenómeno puramente mecánico, porque el amoníaco se transforma en nitrógeno orgánico. Si faltase a la planta toda otra alimentación nitrogenada, este modo de nutrición aseguraría un aumento de la

masa de la substancia orgánica del vegetal. Las plantas verdes son impresionadas de una manera muy diferente por los vapores del carbonato amónico; estos vapores a veces pueden producir la muerte de los órganos que están en contacto con ellos.

Relativamente a la absorción del amoníaco atmosférico por plantas que han vegetado en suelos estériles, Mayer demuestra que, teóricamente, esta absorción es posible. De todas maneras, este fenómeno no tiene más que escasa importancia práctica, porque el amoníaco contenido en la atmósfera es poquísimo.

Mayer añadía que las leguminosas no parecen presentar notables diferencias en este punto respecto de las demás familias de plantas.

En una palabra, se puede deducir de lo que precede que el amoníaco gaseoso muy diluído es absorbido y utilizado por las plantas para la producción de materias albuminoides.

VII

NUTRICIÓN NITROGENADA DE LOS VEGETALES A EXPENSAS DEL NITRÓGENO NÍTRICO Y DEL NITRÓGENO AMONIACAL CONTENIDOS EN EL SUELO

A. **A expensas del nitrógeno nítrico.** — La acción favorable del nitro en las plantas ya era conocida en el siglo XVIII. Sin embargo, en la época en que Boussingault principió a ocuparse en el papel del nitrógeno en la nutrición vegetal, estos antiguos datos habían caído en olvido, y se concedía a las sales amoniacales solas una influencia positiva en el desarrollo de la planta.

Boussingault y G. Ville, en 1865, demostraron simultáneamente el notable papel que desempeñan los nitratos en la producción de la materia nitrogenada. El peso de la materia seca de una planta está en razón directa de la cantidad de nitrógeno nítrico que recibe. Si, además, se dan a la planta, no sólo nitratos, sino todas las sales indispensables para su desarrollo, se obtienen resultados del todo decisivos. Esto es lo que resulta del siguiente experimento de Boussingault,

hecho con *Helianthus,* cuya vegetación duró ochenta y seis días:

	Carbono ganado gr.	Nitrógeno ganado gr.
Suelo estéril	0,140	0,0023
Suelo con materias minerales sin nitrógeno.	0,156	0,0027
Suelo con materias minerales + NO^3K . .	8,446	0,1666

Iguales son las conclusiones formuladas más tarde por Hellriegel y Wilfarth relativamente al modo de nutrición nitrogenada de las gramíneas (cebada) mediante nitratos. Una semilla que evoluciona en un medio que contiene sales minerales sin nitrógeno da origen a una plantita cuya vegetación dura poco más o menos tanto como la de las plantas normalmente alimentadas; puede florecer y aun fructificar, *pero en forma enana,* porque, no produciendo nuevas materias, cada nuevo órgano crece a expensas de la hoja más vieja que se vacia y deseca. La desecación de las hojas no aparece hasta más tarde, cuando la proporción del nitrógeno añadido es insuficiente; si hay bastante cantidad o un exceso de nitratos, la planta se desarrolla normalmente.

Presencia de los nitratos en las plantas.—Esta presencia ha sido reconocida hace ya mucho tiempo. Se puede decir que es casi universal y que debe ser buscada sobre todo en el tallo de los vegetales y, con preferencia, en las plantas jóvenes. Las plantas terrestres y las acuáticas contienen nitratos, tanto si son anuales como vivaces. Se puede comprobar lo mismo en muchos árboles, con la condición de operar en las ramas del año. Los vegetales parásitos y los saprofitas contienen todos nitratos en sus tejidos.

El mejor procedimiento para determinar cuantitativamente el ácido nítrico, consiste en preparar un extracto hidroalcohólico de la parte de la planta examinada y, después de haber evaporado el alcohol, disolver el extracto en una pequeña cantidad de agua. Se vierte entonces el líquido, mediante un embudo de llave, en un matracito en donde se ha calentado a la ebullición una mezcla de ácido clorhídrico y cloruro ferroso. El matracito está provisto de un tubo de

desprendimiento que permite recoger los gases en la cuba de mercurio. El ácido nítrico convierte el cloruro ferroso en cloruro férrico y pasa a óxido nítrico NO. La reacción es cuantitativa: 1 molécula de ácido nítrico da 1 molécula de óxido nítrico. Debe operarse en un medio exento de oxígeno.

Nitratos en los diferentes períodos de la vegetación.—Para seguir bien las variaciones de los nitratos en una planta, debe operarse con un vegetal que almacene normalmente cantidades notables. Tal es el caso de la *borraja*. He aquí lo que ha dado esta planta:

	NO^3K en 100 p. de planta seca	Relación centesimal entre el nitrógeno del nitrato y el peso del nitrógeno albuminoide
26 de abril de 1883. Plantita.	0,5	2,5
29 de mayo. Planta en pleno desarrollo .	2,5	9,5
12 de junio. Principio de la florescencia .	4,2	14,1
7 de septbre. Fructificación .	0,02	0,4
Planta desecada sin arrancar.	0,7	12,8

La proporción, tanto relativa como absoluta, del nitrato potásico crece, a medida que el vegetal se desarrolla, hasta principios de la florescencia: entonces presenta un máximo. Disminuye cuando la función de reproducción aparece, porque, en este momento, el nitrógeno del nitrato se convierte en nitrógeno albuminoide, y esta desaparición se efectúa en mayor proporción que la absorción de esta sal por la planta. Pero, al fin de la fructificación, disminuyendo y aun anulándose esta causa de transformación del nitrógeno mineral en nitrógeno orgánico, se encuentra que el nitrato reaparece en la planta y que su peso absoluto es a veces superior a todos los precedentes.

Si se examina la relación que existe entre el peso del nitrato potásico y el de los principios solubles del extracto acuoso total de la planta, se encuentra que el nitrato repre-

senta la trigésima parte del extracto al principio, la quinta en el momento del máximo (florescencia), la milésima en el momento de la fructificación (mínimo) y, de nuevo, la trigésima al terminar la vegetación.

Si se quitan sistemáticamente sus inflorescencias a algunas plantas de borraja, las partes verdes adquieren un excesivo desarrollo, y desaparecen los nitratos por efecto de la transformación integral de su nitrógeno en nitrógeno albuminoide.

Citemos los resultados obtenidos con otra planta rica en nitrato potásico, el *Amaranthus caudatus:*

	NO^3K en 100 partes de planta seca	Relación centesimal entre el nitrógeno del nitrato y el peso del nitrógeno albuminoide	Relación centesimal entre el peso del nitrato y el peso del extracto total
26 de abril de 1883. Plantita.	1,6	61,0	21,0
29 de mayo. Planta en pleno desarrollo .	4,5	24,0	20,0
30 de junio. Principio de la florescencia .	5,7	17,0	26,5
11 de septbre. Florescencia .	1,0	3,0	1,9
19 de octubre. Fructificación y principio de desecación .	3,1	11,6	7,7

Los fenómenos observados son, pues, poco más o menos, del mismo orden que los que hemos analizado en la borraja (Berthelot y G. André, 1884).

Nitratos en las diferentes partes de la planta. — La repartición del nitrato potásico en los diferentes órganos de la borraja enseña que, al principio de la vegetación (29 de mayo), los nitratos están sobre todo concentratos en el tallo, el cual contiene el máximo, no sólo relativo sino también absoluto: la raíz es menos rica. En la hoja los nitratos tienden a desaparecer a causa de su transformación en albuminoides.

Los tallos contienen, en la época citada, 7,6 de nitrato potásico para 100 partes de materia seca, las hojas sólo 0,5.

Al comenzar la florescencia (12 de junio), los nitratos predominan todavía en el tallo y en la raíz y, en ésta, aun de una manera absoluta y relativa: las flores no los contienen, las hojas poco, mientras que contienen diez y seis veces más de albuminoides.

En el momento de la fructificación, las hojas y las inflorescencias no contienen ya indicios de nitratos.

La hoja aparece, pues, claramente como el lugar donde se efectúa la transformación del nitrógeno mineral en nitrógeno orgánico. Pagnoul demostró hace tiempo que, en las hojas asoleadas de las remolachas, los nitratos desaparecen rápidamente, pero que continúan, por el contrario, en ellas durante la obscuridad. Antiguos experimentos de Sachs (1862) hablaban ya en el mismo sentido. Pronto examinaremos el mecanismo de esta transformación.

Bueno es observar de paso que, en un cultivo artificial, se puede reemplazar el nitrógeno nítrico por el *nitrógeno nitroso*. Tréboux ha demostrado (1905) que los nitritos constituyen una fuente favorable de nitrógeno mientras tanto el líquido de cultivo permanece neutro o alcalino; si se vuelve ácido, los nitritos son tóxicos a causa de la aparición del ácido nitroso libre. Mazé (1911) obtuvo un desarrollo normal del maíz mediante el nitrito potásico, en la proporción de 0,5 por 1000, con exclusión de todo otro elemento nitrogenado.

Acumulación de los nitratos en ciertos vegetales.— Muchas plantas acumulan, sin provecho para ellas y principalmente en sus tallos, enormes cantidades de nitratos. Los amarantos, la borraja, la tetragonia, cultivados en suelos bien abonados, a menudo adquieren grandes dimensiones. Sus tallos, incinerados después de desecación en estufa, producen una verdadera deflagración.

Entre las plantas del gran cultivo, el maíz y la remolacha pueden ser citados como ejemplo de vegetales que contienen grandes proporciones de nitrato potásico. Algunas remolachas, especialmente de la especie forrajera, contienen a menudo tales cantidades de nitrato potásico que su ingestión puede producir a veces en los animales graves perturbaciones, sobre todo en los riñones.

Barral ha encontrado remolachas que contenían 7 gr. y aun 8,9 gr. de nitro por Kg. Las proporciones medias no pasan de

0,8 a 0,9 gr. por Kg. de raíces. En una cosecha de remolachas estudiada por Pagnoul, las raíces de esta planta, cultivada en la superficie de una hectárea, contenían 145 Kg. de nitro. Paturel ha encontrado, en dos variedades de remolachas forrajeras, 58 y 341 Kg. de nitro en las raíces.

Consecuencias de la nitrificación en los suelos.—Pérdidas de nitratos.—La mayoría de los vegetales que se desarrollan en suelos suficientemente calcáreos absorben, pues, los nitratos que encuentran y transforman este nitrógeno nítrico en nitrógeno proteico. Acabamos de ver también que muchas plantas almacenan grandes proporciones de nitratos que permanecen como tales en sus tejidos. Este almacenamiento es tanto más notable cuanto más activamente nitrifica el suelo y, por consiguiente, cuanto más copiosos abonos nitrogenados ha recibido. Cuando un suelo así está desposeído, después de la cosecha, de toda vegetación, pierde los nitratos que contenía a causa del lavado que sufre por el agua de lluvia. Esta es una circunstancia muy desfavorable, porque el suelo pierde de este modo una cantidad con frecuencia considerable de nitrógeno eminentemente asimilable. Pero, es posible remediar, a lo menos en parte, tal estado de cosas, utilizando precisamente la propiedad que tienen las plantas de absorber el nitrógeno nítrico y de inmovilizarlo en algún modo en forma de nitrógeno albuminoide o tal cual es. Para ello, en un suelo privado de vegetación después de recogida la cosecha, se cultiva una planta de rápido crecimiento (por ejemplo, mostaza), que, entre últimos de agosto y mediados de noviembre, absorberá tanto más nitrato cuanto más intensa sea la evaporación producida por sus hojas. Se almacena, pues, de un modo directo el ácido nítrico que se habría perdido con las aguas de infiltración. El nitrógeno de este ácido nítrico, transformado en nitrógeno proteico, podrá servir de alimento para el ganado. A menudo no se hace más que enterrar esta planta en el mismo campo a fines de noviembre: durante el invierno, y sobre todo en la primavera siguiente, su nitrógeno proteico experimentará en el suelo profundas metamorfosis que lo convertirán paulatinamente, primero en la forma de amida, después en la forma amoniacal y finalmente en la forma nítrica. Si, pues, en el mismo sitio en que la planta ha sido enterrada a últimos de otoño, se siembra en el mes de abril del año siguiente otra planta, ésta se aprovechará del nitrógeno que la primera ha almacenado en forma proteica, es decir, en una forma insoluble, pero que los agentes microbianos del suelo han simplificado hasta tal punto durante el invierno, que este nitrógeno se encuentra finalmente en forma amoniacal y aun nítrica, directamente asimilable por la nueva planta que va a evolucionar (Dehérain).

A estos cultivos, destinados a impedir la pérdida de los nitratos por las lluvias de otoño a invierno, se da el nombre de *cultivos intercalados*.

Volveremos a hablar de la absorción del nitrógeno nítrico a propósito de los cultivos artificiales hechos en medios de composición conocida.

B. **A expensas del nitrógeno amoniacal.**—La planta es también capaz de absorber en el suelo el nitrógeno en forma amoniacal y de transformar éste en nitrógeno albuminoide. Se deben a Müntz (1889) los primeros experimentos concluyentes relativos a este asunto. Los experimentos presentan ciertas dificultades de ejecución; porque, cuando se añade al suelo una sal amoniacal (sulfato o cloruro amónicos), esta sal no tarda en nitrificar en las condiciones habituales, es decir, cuando el suelo contiene calcáreo, cierta proporción de humedad y de oxígeno y cuando la temperatura es suficientemente elevada. A causa precisamente de la intervención del fermento nítrico, no se puede saber, en el caso en que el suelo ha recibido sales amoniacales, si la planta absorbe estas sales sin alterar, o bien si absorbe los nitratos que proceden de su oxidación.

Es preciso, pues, para juzgar el papel del amoníaco, ponerse fuera de las condiciones de la nitrificación.

Para ello se toma tierra vegetal, se la despoja mediante un lavado con agua de los nitratos que contiene, y se la adiciona de sulfato amónico; luego se la pone en grandes vasos que se introducen en una estufa a 100°. Esta tierra está, pues, exenta de nitratos y de organismos nitrificantes.

Para evitar ulteriormente toda infección fortuita, se emplean grandes cajas, muchas de cuyas paredes son de vidrio, mientras que las otras están formadas por telas filtrantes destinadas a dejar pasar el aire después de haber retenido sus gérmenes. Las paredes de estas cajas están untadas de glicerina.

Antes de ser sembradas, las semillas se someten a una corta inmersión en agua caliente, para matar los gérmenes de su superficie. Se introducen los vasos en la caja y se lleva ésta a un cobertizo abierto.

Se efectúa el riego con agua esterilizada. Así la planta vegeta, pues, en un medio exento de nitratos y esterilizado desde el punto de vista de la nitrificación. Comparativamente, en otras cajas, preparadas de idéntica manera, se ponen vasos a cuya tierra se ha incorporado un poco de mantillo destinado a introducir el fermento nítrico. La diferencia entre estas dos series de vasos es la siguiente:

en el primer caso, el amoníaco persiste; en el segundo, se nitrifica. Continuados durante tres años, los experimentos han dado resultados idénticos. El examen de las tierras esterilizadas y no adicionadas de mantillo ha puesto de manifiesto la ausencia de nitratos, aun al cabo de muchos meses; las plantas que crecían en ellas no habían podido, pues, tomar su nitrógeno más que al sulfato amónico.

He aquí las cantidades de ácido nítrico que se habían formado al terminar los experimentos:

	Tierras no adicionadas de fermento nítrico		Tierras adicionadas de fermento nítrico	
	Principio	Fin	Principio	Fin gr.
1.º	0	0	0	0,0912
2.º	0	0	0	0,4200

En general, la vegetación se desarrolló de una manera satisfactoria. Determinando la cantidad de nitrógeno contenido en la planta y restando el de la semilla, se observa que la planta ha utilizado el nitrógeno amoniacal:

Experimentos hechos con:	Nitrógeno tomado del NH^3 gr.
Habas.	0,9150
Habichuelas	0,0890
Maíz	0,2080
Cebada	0,0493
Cáñamo	0,1145

Resulta de estos experimentos que los vegetales superiores pueden absorber directamente por sus raíces el nitrógeno amoniacal, y que la nitrificación del amoníaco no es una condición indispensable para su utilización.

De todos modos, los casos en que el amoníaco no es susceptible de nitrificar constituyen la excepción, porque esta nitrificación es muy rápida, sobre todo en primavera, cuando la temperatura se eleva. No hay, pues, generalmente, lugar en la práctica para establecer distinción fundamental entre el empleo del nitrógenó nítrico y el del nitrógeno amoniacal.

Algunos años después de los trabajos de que acabamos de hablar, Mazé (1898) hizo experimentos de la misma índole, pero haciendo vegetar las plantas en soluciones acuosas nutritivas esterilizadas, provistas de sulfato amónico. Después de la vegetación, sacaba las plantas de los frascos y conservaba éstos durante algunas semanas para ver si el amoníaco se convertía en ácido nítrico: el resultado fué negativo; lo que confirma los trabajos de Müntz.

Habiendo cultivado en las mismas condiciones maíz en soluciones que contenían un nitrato, Mazé ha notado que el desarrollo de las plantas sigue una marcha paralela a la por él observada con el sulfato amónico; el peso de la materia seca elaborada en el mismo tiempo es aproximadamente el mismo, con la condición de que la concentración del sulfato amónico no pase de 0,5 por 100.

La inferioridad, frecuentemente observada, de las sales amoniacales respecto de los nitratos en el gran cultivo, debe atribuirse a la influencia nociva de las sales amoniacales empleadas en proporción superior a la citada, mientras que los nitratos no producen nada semejante en los límites señalados por las exigencias del cultivo en nitrógeno.

Cuando se opera en medios esterilizados (arena o cultivos en líquidos), se observa que los *guisantes* no manifiestan diferencia entre el nitrógeno amoniacal y el nitrógeno nítrico. El trigo utiliza mejor este último. Los vegetales que toman su nitrógeno exclusivamente de las sales amoniacales tienen, en general, una riqueza en nitrógeno total mayor que si toman este nitrógeno en forma nítrica (Hutchinson y Müller, 1909).

Consideraciones generales sobre la nutrición nitrogenada.—Es notable ver que una planta pueda utilizar indiferentemente el nitrógeno contenido en un nitrato y en una sal amoniacal. Sin embargo, aun cuando sea superfluo insistir en la diferencia de estructura que existe entre el ácido nítrico y el amoníaco, es necesario admitir que, puesto que la planta elabora los mismos compuestos con estas dos formas del nitrógeno, éstas, en un momento dado, deben encontrarse en el mismo estado. Por los experimentos de Schlœsing hijo (pág. 75) sabemos que las sales oxigenadas tomadas del suelo (sulfatos, fosfatos, nitratos) se reducen en los tejidos vegetales; porque, principalmente cuando se emplean los nitratos, las plantas enteras, durante el curso de su vegetación, desprenden en volumen más oxígeno que gas carbónico descomponen. Por lo tanto, la forma inicial del nitrógeno *utilizable* debe ser una forma no oxigenada: tal vez sea el mismo amoníaco. Por otra parte, la reducción de los nitratos requiere cierto tiempo. Hemos visto, en efecto, que estas sales se acumulan muy frecuentemente sin modificarse en las hojas, y sobre todo en los tallos, mientras que las sales amoniacales no se acumulan nunca. El vegetal no contiene más que mínimas cantidades de las últimas, aun cuando se desarrolle en un suelo o en un medio artificial que estén provistos de alguna proporción, compatible de todos modos con la existencia de la planta.

Si se examina con más detenimiento la cuestión, es evidente que el mecanismo de la transformación, por una parte de los nitratos, y por otra de las sales amoniacales, en nitrógeno albuminoide, se complica con la separación de un cuerpo básico en el primer caso

(potasa o cal) y con la de un cuerpo ácido en el segundo (ácido clorhídrico o sulfúrico).

Esta última separación es muy franca en una mucedínea, el *Aspergillus niger;* ha sido observada por Tanret (1897) en las circunstancias siguientes. Se nutre el *Aspergillus* con el líquido de Raulin, después de haber añadido a éste una cantidad de nitrato amónico doble de la que se emplea de ordinario (0,50 gr. en vez de 0,25 gr.). Al cabo de veinticuatro horas se separa este líquido y se substituye por líquido nuevo sobrenitratado (0,75 gr.). Repitiendo muchos días seguidos esta manipulación, se observa que la mucedínea sólo vive en estado de micelio *blanco* sin esporular. Esta propiedad de impedir o de retardar la esporulación no es exclusiva del nitrato amónico; el sulfato y el cloruro también la tienen en proporciones correspondientes. Esta vida miceliana del *Aspergillus* va acompañada de una reacción muy curiosa: el *ácido de la sal amoniacal aparece en estado de libertad en el líquido de cultivo,* al mismo tiempo que se forma fécula en el tejido del hongo. El líquido en que se cultiva éste por el procedimiento ordinario contiene a menudo ácido oxálico; pero, si se obliga al *Aspergillus* a desarrollarse en estado de micelio en un líquido sobrenitratado, nunca se encuentra ácido oxálico. Los ácidos *libres* que entonces se hallan en disolución son los ácidos nítrico, sulfúrico o clorhídrico, correspondientes a las sales amoniacales empleadas.

Nos ocuparemos detenidamente en esta cuestión cuando tratemos de la nutrición mineral de los vegetales.

VIII

ELABORACIÓN DEL NITRÓGENO MINERAL. TRANSFORMACIÓN DE ESTE NITRÓGENO EN NITRÓGENO ALBUMINOIDE

La conclusión a que nos llevan los hechos expuestos anteriormente es la siguiente: el nitrógeno nítrico o el nitrógeno amoniacal, absorbidos por los vegetales en forma *mineral,* se metamorfosean, principalmente en las hojas, en una nueva forma, la de *nitrógeno proteico* o *albuminoide.*

Las propiedades y la naturaleza de las substancias albuminoides varían con el órgano en que se han depositado; pero, estas materias presentan el carácter común de contener carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre y a veces fósforo.

Su peso molecular es muy elevado; actualmente es desco-

nocido, como el de la fécula o de la celulosa. Constituyen un grupo natural. Su aislamiento en estado de pureza presenta a menudo muchas dificultades, y con gran trabajo se obtienen exentas de materias minerales. Son amorfas; sin embargo, algunas de ellas han podido ser cristalizadas. Algunas parecen disolverse en el agua (seudosoluciones, soluciones coloidales); otras simplemente se hinchan en contacto con este líquido.

Nos ocuparemos más adelante en su estructura química. Digamos ahora solamente que, cuando experimentan transformaciones por hidratación (acción artificial de los álcalis, de los ácidos diluídos, de ciertas enzimas), engendran compuestos de fórmulas relativamente simples, cristalizables, pertenecientes a funciones químicas bien definidas, entre las cuales se encuentran los ácidos amínicos y las amidas.

Inversamente, hemos de admitir forzosamente, aun cuando generalmente sea esto de difícil observación, que el nitrógeno mineral, en contacto con ciertas substancias ternarias del organismo vegetal, antes de originar un albuminoide, pasa por una serie de estados de condensación por de pronto simples (ácidos amínicos, amidas). Por polimerización y deshidratación, estas amidas engendran finalmente la materia albuminoide definitiva. Esta es característica de toda célula viviente, tanto animal como vegetal.

El lugar de producción de los albuminoides, como hemos dicho antes, es principalmente la hoja: gracias a la actividad del fenómeno clorofiliano en este órgano, se comprende que los hidratos de carbono nuevamente formados sean especialmente aptos para entrar en combinación con el nitrógeno mineral.

La influencia de la luz solar generalmente debe ponerse fuera de duda en lo que toca a la síntesis de la materia nitrogenada. Según Pagnoul, parece desempeñar, en la descomposición de los nitratos y en la subsiguiente formación de los principios nitrogenados, un papel análogo al que desempeña en la misma asimilación clorofiliana.

Mecanismo de la formación de los albuminoides.— Resulta de lo que precede, que el ácido nítrico de los nitratos, antes de entrar en reacción con las materias terna-

rias, sufre una serie de desoxidaciones que lo llevan al estado de amoníaco. Lo que parece bien demostrado es la influencia preponderante que posee *la parte más refrangible de los rayos del espectro solar* en el fenómeno de síntesis de las materias proteicas.

La intervención de la clorofila no parece, sin embargo, siempre necesaria, porque, según Laurent, Marchal y Carpiaux (1897), las hojas blancas del *Acer negundo,* puestas en contacto con una solución de sulfato amónico, asimilan mejor el nitrógeno amoniacal que las hojas verdes.

A la luz, como en la obscuridad, las plantas jóvenes de trigo, cultivadas en un líquido nitrado, acumulan en sus tejidos nitratos cuya transformación en materia proteica es irrealizable en ausencia de la luz.

En este último caso no se producen más que compuestos amidados; éstos subsisten mientras la planta está en la obscuridad: se metamorfosean en materias proteicas solamente a la luz (Godlewski).

Observemos, sin embargo, que la presencia de una cantidad abundante de materias azucaradas podría provocar, aun en la obscuridad, la síntesis de los albuminoides.

Hansteen cultiva *lentejas de agua (Lemna minor)* en agua esterilizada, y mantiene el cultivo durante algunos días en la obscuridad para privar a las plantas de su fécula. Luego inmerge las plantas en soluciones de glucosa o de azúcar de caña, que contienen una pequeña cantidad de las siguientes amidas: asparagina, urea, glicocola. Los ensayos se hacen en la obscuridad. En estas condiciones se forman albuminoides a expensas de la materia azucarada y de la amida añadidas. Existen vegetales que, en las condiciones que se acaban de enunciar, producen albúmina a expensas de la glucosa y de las sales amoniacales.

Esta transformación, *en la obscuridad,* del nitrógeno nítrico en nitrógeno albuminoide, en presencia de los hidratos de carbono, ha sido afirmada por muchos observadores, [Zaleski, Susuki, Lœw]. (Véanse también más adelante, sobre este punto, los experimentos de germinación en la obscuridad.)

De todas maneras, es necesario admitir que, normalmente, la acción luminosa (los rayos más refrangibles del espectro) desempeña un papel preponderante en la síntesis de las materias proteicas. Durante la noche, la hoja elaboraría, a expensas del nitrógeno mineral, compuestos amidados; éstos, a la luz solar, se transformarían en compuestos proteicos. En la obscuridad, los nitratos no engendrarían más que amidas, de las cuales la más importante es la *asparagina* $C^4H^8N^2O^3$. Precisamente ésta es la amida que se forma con preferencia cuando una semilla germina en la obscuridad o cuando se substrae a la radiación solar una planta previamente asoleada. La asparagina aparece, pues, como un término intermedio importante, ya en la síntesis de los albuminoides partiendo del nitrógeno mineral, ya en su descomposición provocada en ausencia de la luz del sol.

Según D. Berthelot y H. Gaudechon (1910, 1912), volúmenes iguales de óxido de carbono y de gas amoníaco se unen, por la acción de la luz ultravioleta, formando la *amida fórmica* $H.CO.HN^2$.

Teoría de la formación de los albuminoides. — Se han emitido gran número de hipótesis relativas a la síntesis de los albuminoides en los vegetales. Nuestros conocimientos sobre este punto son todavía muy insuficientes.

Emmerling cree que, dada la presencia del ácido oxálico en la mayoría de los vegetales, este ácido actuaría sobre el nitrato potásico y pondría en libertad al ácido nítrico en estado de gran dilución. Si, pues, en ciertas plantas, la formación de la materia albuminoide va unida normalmente a la descomposición de los nitratos, el desarrollo del vegetal debe depender, en cierto modo, de la facultad que posee la planta de formar ácido oxálico.

Parece, en efecto, que existe una correlación entre la presencia, en el vegetal, de ciertos ácidos, tales como el ácido oxálico, y la acumulación de los albuminoides. Según Berthelot y G. André (1885), la formación del ácido oxálico se realiza en la hoja con preferencia a los tallos y a las raíces. Semejante formación no parece aquí atribuible a un fenómeno de oxidación (1), puesto que las hojas son

(1) Éste es, sin embargo, el caso general: los ácidos, a lo menos en las plantas carnosas de transpiración poco activa, no son más que los productos de una respiración, es decir, de una oxidación incompleta. Volveremos a este punto al tratar de la respiración.

órganos de reducción. El ácido oxálico podría proceder de una reacción entre el aldehido metílico y el agua:

$$2\ CH^2O + 2\ H^2O = C^2H^2O^4 + H^6,$$

con formación de un principio complementario más hidrogenado que los hidratos de carbono. Este exceso de hidrógeno, absolutamente constante en los análisis de los vegetales (pág. 87), corresponde ciertamente a los albuminoides que éstos siempre contienen.

Experimentando verosímilmente los nitratos una reducción previa que los transforma por de pronto en amoníaco, Lœw admite que la asparagina se origina por unión del amoníaco con el aldehido metílico producido por la función clorofiliana: la asparagina sería el primer término de los ácidos amínicos, a expensas de los cuales se formaría ulteriormente la materia albuminoide.

La teoría de la formación de los albuminoides propuesta por A. Gautier difiere un poco de las anteriores. El ácido nítrico libre, en estado de extremada dilución en los jugos vegetales, encontraría el aldehido metílico y se formaría *ácido cianhídrico:*

$$2\ NO^3H + 5\ CH^2O = 2\ CNH + 3\ CO^2 + 5\ H^2O.$$

Libre o en forma de cianhidrina, el ácido cianhídrico aparece en multitud de plantas. Este ácido, uniéndose con el aldehido metílico, engendraría los albuminoides, a lo menos en algunos vegetales. Es, en efecto, el primer producto reconocible de la elaboración del nitrógeno mineral.

Esta opinión es también la de Treub: el ácido cianhídrico sería uno de los términos de tránsito entre el nitrógeno mineral y el nitrógeno orgánico.

Se podría igualmente formular la génesis del ácido cianhídrico de la manera siguiente, partiendo de un hidrato de carbono y del nitrato potásico:

$$2\ C^6H^{12}O^6 + 6\ NO^3K = 6\ CNH + 3\ \underset{\text{Oxalato potásico}}{C^2K^2O^4} + 9\ H^2O + O^9.$$

Esta ecuación explica el hecho de que la presencia de los ácidos orgánicos es constante en los vegetales a los cuales se suministran nitratos como alimento nitrogenado, y el hecho, señalado por Schlœsing hijo (pág. 75), del desprendimiento de un exceso de oxígeno durante el curso de la vegetación de las plantas que toman su nitrógeno de los nitratos.

Ravenna y Peli (1908) demuestran que las hojas del sorgo contienen ácido cianhídrico libre, cuya cantidad aumenta desde la mañana hasta la tarde. Este ácido se formaría directamente a expensas de los nitratos y de los hidratos de carbono, y la luz favorecería su formación como generadora de estos últimos. Según Ravenna y

Zamorani (1910), la elaboración del nitrógeno pasa por los siguientes estadios: nitratos, ácido cianhídrico, cuerpos amidados, albuminoides. Si se cultivan dos lotes de sorgo dando al primero nitratos e inoculando el segundo con una solución de asparagina, se encuentra que el primero contiene más ácido cianhídrico que el segundo.

Por otra parte, Bach opina que los términos sucesivos de la reducción del ácido nítrico son el *ácido nitroso* NO^2H, el *ácido hiponitroso* NOH y después el radical $NH=$. Este, por fijación de 2 moléculas de agua, se transforma en *hidroxilamina* NH^2OH, la cual, en presencia del aldehido fórmico, formaría la *formaldoxima* CH^2NOH, luego su isómero la *formiamida* $CHO.NH^2$, primer término de síntesis de un cuerpo amidado y, ulteriormente, de un albuminoide.

De todas maneras, debe creerse que la existencia de la hidroxilamina es de corta duración, porque esta substancia no tiene ningún valor alimenticio respecto de los vegetales. En efecto, Lutz ha demostrado que el clorhidrato de esta base no puede servir de alimento nitrogenado, ni a las fanerógamas, ni a las algas, ni a las mucedíneas. Si se admite, según las ideas de Bach, que el radical NH'' sea el término último de la reducción de los nitratos, es posible formular de la siguiente manera la síntesis de la asparagina — punto de partida de la de los albuminoides — suponiendo que el aldehido metílico entra en reacción con este radical:

$$4\,CH^2O + HN:NH = \underset{\text{Asparagina}}{C^4H^8N^2O^3} + H^2O.$$

Esta opinión está apoyada por el siguiente hecho indicado por Serno: plantas jóvenes, privadas de sus cotiledones y cultivadas en soluciones nitratadas, almacenan nitratadas y forman asparagina.

Según Baudisch (1911), el grugo *nitrosilo* $>N\begin{matrix}-H\\ =O\end{matrix}$ desempeñaría un papel importante en la síntesis vegetal. Este grupo se engendraría en la acción de la energía luminosa sobre los nitratos y los nitritos: la asimilación de estos dos géneros de sales derivaría de un proceso fotoquímico. En efecto, una solución diluída de nitrato potásico, expuesta a la luz difusa, se transforma lentamente en nitrito con separación de oxígeno. Una disolución diluída de nitrito, adicionada de alcohol metílico, da oxígeno a la luz difusa; este oxígeno actúa sobre el alcohol con formación de aldehido fórmico, el cual, en estado naciente, se combina con el grupo NOK dando el *ácido formhidroxámico:*

$$CH^3.OH + NO^2K = HC\,(OH)\,(:NOK) + H^2O.$$

Este ácido desaparecería por efecto de la acción prolongada de la luz dando, como últimos términos, amoníaco o aminas. W. Lœb (1913)

demuestra que, si se somete a la descarga eléctrica silenciosa una solución acuosa de formiamida, se ve aparecer, entre otros cuerpos, la *glicocola*. Resulta de esto que, partiendo de los productos iniciales de la síntesis natural C^2O, H^2O, NH^3, y haciendo intervenir una forma de energía apropiada que se aproxime a la energía luminosa, se puede obtener un ácido amínico cuya importancia es grande en la síntesis de los albuminoides.

Todas estas hipótesis presentan cierto grado de verosimilitud; pero, si es posible explicar y aun realizar la síntesis de una amida por uno de estos diferentes medios, falta todavía encontrar el modo de condensación de las amidas entre sí hasta la producción de la materia definitiva, es decir, el albuminoide.

Reducción de los nitratos por los vegetales. — Se debe a Laurent (1897) el conocimiento de los siguientes hechos, que demuestran que el vegetal es capaz de reducir el nitrógeno nítrico y convertirlo en nitrógeno nitroso.

Se ponen, en contacto con una solución de nitrato potásico al centésimo, semillas esterilizadas mediante el bicloruro de mercurio. Se ha principiado haciéndolas germinar en agua destilada y esterilizada. Al cabo de cuarenta y ocho horas el líquido que las baña da la reacción de los nitritos. Esta reducción de los nitratos es más activa cuando la superficie del líquido que está en contacto con el aire es pequeña. El poder reductor respecto del nitrógeno nítrico no se presenta en las semillas en reposo; sólo aparece en el primer tiempo de la germinación.

El oxígeno, en disolución en el líquido, es rápidamente absorbido por las plantitas, y a partir de este momento es cuando principia la reducción. Por el contrario, si el líquido está muy en contacto con el aire, no hay reducción. Solamente ocurre ésta cuando se hace el experimento en tubos de ensayo estrechos. En el vacío esta reducción es rápida: está, pues, unida *a la vida sin aire*.

Cortes de patatas o de nabos, bulbos, tallos y muchos frutos se comportan como las semillas; y lo mismo acontece con algas, hongos y bacterias.

La reducción de los nitratos por los vegetales es, como la fermentación alcohólica, una consecuencia de la vida que continúa en un medio privado de oxígeno libre.

Esta reducción de los nitratos da nueva luz para comprender el fenómeno de la síntesis de los cuerpos amidados: vemos, en efecto, la necesidad de la desoxidación del ácido nítrico en la serie de transformaciones que conducen el nitrógeno mineral al estado de nitrógeno orgánico.

Según Donny-Hénault (1912), la reducción fotoquímica de los nitratos disueltos es acelerada por la presencia de las sales manganosas. La reducción puede llegar al término NH^3; una débil alcalinidad la favorece. Las sales ferrosas se comportan como las sales manganosas, pero entonces es necesaria una ligera acidez del medio.

IX

NUTRICIÓN NITROGENADA A EXPENSAS DE LAS SUBSTANCIAS ORGÁNICAS: AMINAS, AMIDAS, NITRILOS

La posibilidad de nutrir los vegetales mediante amoníacos compuestos (clorhidratos de metilamina o de etilamina) ha sido puesta de manifiesto primeramente por G. Ville. Pero, como los microorganismos invadían forzosamente los cultivos, y él no había tomado precauciones especiales respecto de esto, no se puede saber, a partir de estas primeras investigaciones, si es el nitrógeno complejo el que ha sido absorbido o, simplemente, un producto tal como el amoníaco o el ácido nítrico procedente de la acción de los microorganismos sobre el nitrógeno amínico.

Trabajos más recientes (Meunier, Borodine, Frank, Kinoshita, etc.) han demostrado que la asparagina es directamente asimilable por las plantas. La urea ha dado resultados satisfactorios. El problema así propuesto requería, pues, nuevas investigaciones.

La cuestión de la nutrición nitrogenada por medio de las aminas y de las amidas ha quedado resuelta en sentido afirmativo gracias

a los trabajos de Lutz (1898). Este autor ha hecho sus experimentos al abrigo de toda causa de infección accidental usando arena silícea lavada y calcinada, y luego humedecida con una solución nutritiva conveniente que contenía la sal de amina destinada a suministrar el nitrógeno a la planta.

Lutz deduce de sus experimentos que, puestas en condiciones de rigurosa asepsia, las plantas fanerógamas (1) pueden tomar el nitrógeno que necesitan a compuestos pertenecientes al grupo de las *aminas* empleadas en forma de sales: el nitrógeno de estas aminas es asimilado sin haber sufrido transformación previa en nitrógeno nítrico o amoniacal. Para que el ensayo tenga éxito es preciso que las aminas procedan de la substitución del hidrógeno por radicales cuyo peso molecular no sea demasiado elevado. En este sentido las metilaminas son excelentes fuentes de nitrógeno; la bencilamina y la piridina no dan resultados.

Las algas se comportan como las plantas fanerógamas.

Las aminas fenólicas: anilina, naftilamina, son tóxicas para las algas como para las fanerógamas.

En cuanto a los hongos, se comportan como las algas, y el peso de la planta obtenido después del experimento es tanto mayor cuanto menor es el peso molecular del radical que ha substituído al hidrógeno. Sin embargo, según Molliard (1909), las sales de metilamina serían tóxicas respecto de los rábanos y del maíz.

Por lo que se refiere a las *amidas,* Lutz ha demostrado que, respecto de los hongos *(Aspergillus niger, A. repens, Penicillium glaucum),* estos compuestos son asimilados directamente, sin que haya formación de amoníaco, si se opera en ausencia absoluta de microorganismos. Las amidas sobre que el autor ha hecho experimentos son la formiamida. la acetamida, la propionamida, la butiramida, la asparagina, la urea, la succinamida. Por el contrario, las amidas aromáticas son tóxicas.

Lutz hace notar que esta asimilación del nitrógeno de las amidas, no habiendo sufrido ellas ninguna modificación, raramente se realiza en la práctica, porque estos compuestos son muy alterables por la acción de los microorganismos, y añade que, «si fuese permitido extender a las fanerógamas las conclusiones de este estudio, la propiedad de la asimilación directa de las amidas podría ser aplicada a los fenómenos de migración de las substancias cuaternarias en el cuerpo de las plantas, migraciones en las cuales la asparagina parece, hasta ahora, desempeñar un papel importante».

Czapek, por su lado, llegó a conclusiones análogas relativas a la nutrición de los hongos por medio de amidas.

Los *nitrilos* de la serie grasa, tales como el acetonitrilo, el propionitrilo, el butironitrilo, son asimilados por las algas *(Pleurococcus miniatus, Raphidium polymorfum);* los de la serie aromática:

(1) Calabaza, maíz, helianto.

naftonitrilo, benzonitrilo, no lo son. Respecto de los hongos, los nitrilos se comportan como substancias no asimilables (Lutz).

Según Molliard (1911), el urato sódico, lo mismo que la alantoína, aceleran el desarrollo de los rábanos en medio aséptico. Por el contrario, la xantina (dioxipurina) eleva poco el rendimiento; la teobromina (dimetilxantina) y la cafeína (trimetilxantina) son tóxicas.

La asimilación directa por los vegetales inferiores de ciertas substancias amidadas sugiere la siguiente observación. Effront ha demostrado que la levadura de cerveza y el *Amylobacter butylicus* contienen una diastasa especial, la *amidasa,* que descompone integralmente — en amoníaco y ácidos grasos volátiles sin alcohol — ciertos ácidos amínicos tales como la asparagina, la leucina, el ácido glutámico. Tal vez muchos otros organismos inferiores, precisamente los que pueden vivir a expensas del nitrógeno amidado, serían capaces de segregar amidasa. Entonces el amoníaco resultante de esta descomposición, o mejor la sal amoniacal formada, constituiría el verdadero agente de la nutrición nitrogenada, y se entraría así en el caso general, examinado antes, de la absorción del nitrógeno amoniacal por los vegetales.

Nutrición nitrogenada a expensas de substancias orgánicas complejas de naturaleza indeterminada.— Hemos visto antes (pág. 115) que ciertos vegetales verdes vivían, parcialmente a lo menos, a expensas del humus. Estos vegetales absorben el nitrógeno de este humus, que no se halla en estado amoniacal, ni en estado nítrico. Además, todos los vegetales que viven en los suelos ácidos (tierras de bosques, landas, tierras de brezo) no toman igualmente su nitrógeno del medio más que en una forma compleja, puesto que estos suelos ácidos no nitrifican.

Actualmente se tienen pocos datos positivos respecto de la *naturaleza* de este nitrógeno. Todo lo que se puede adelantar sobre este punto es que la materia nitrogenada del suelo se comporta *como una mezcla de amidas* respecto de los ácidos o de los álcalis diluídos, los cuales, efectivamente, transforman en frío, y mejor en caliente, el nitrógeno orgánico del suelo en nitrógeno amoniacal.

Todos los hongos humícolas se apoderan directamente de la materia carbonada del humus y, por consiguiente, toman el nitrógeno que necesitan de los complejos nitrogenados que éste contiene.

Es evidente, por lo que se refiere a los vegetales superiores, que las micorrizas desempeñan un papel capital en la absorción de la materia húmica. Esta asociación entre un hongo y una raíz parece sobre todo frecuente en los suelos ricos en humus y tiende a debilitarse, o hasta a desaparecer, cuando la proporción del suelo en humus disminuye. Numerosas observaciones demuestran que, puesto que la simbiosis tiende a desaparecer en los suelos ricos en materias directamente absorbibles por las plantas, es probable que la formación de las micorrizas esté íntimamente relacionada con la dificultad que experimentan los vegetales en apoderarse de los alimentos del suelo (Stahl).

Esta penetración del nitrógeno orgánico en la raíz de una planta provista de micorrizas se efectuaría, según algunos autores, por intermedio de las hifas de los hongos simbiotas. Estas hifas serían atacadas en el interior de la planta hospitalaria por una enzima especial y serían digeridas.

C. Ternetz (1904) ha podido cultivar ocho especies de hongos pertenecientes a las micorrizas de ciertas ericáceas. Cinco de ellas tenían la propiedad de fijar el nitrógeno gaseoso. Estos hongos son del género *Phoma*. Cuando se les da glucosa son capaces, según la especie, de fijar de 11 a 22 mm. de nitrógeno gaseoso por gramo de glucosa destruída.

Tal vez podría admitirse también que los fermentos amoniacales, tan esparcidos en el suelo, descomponen continuamente la materia nitrogenada compleja del humus, y que el amoníaco resultante de esta descomposición es absorbido directamente por el vegetal.

Sin embargo, Mazé ha demostrado recientemente (1913) que el maíz era capaz de absorber directamente el humus en medio aséptico; Pouget y Chouchak (1913) han observado el mismo hecho en el mijo.

Acabamos de estudiar las diferentes formas en que el nitrógeno mineral y orgánico penetra en el vegetal; vamos ahora a exponer un estudio sumario de los principales compuestos nitrogenados que se encuentran en la planta.

X

CUERPOS NITROGENADOS DE ORIGEN VEGETAL

Las materias nitrogenadas de origen vegetal son principalmente *ácidos amínicos, albuminoides* y *alcaloides.*

Se encuentran también en ciertos vegetales *glucósidos nitrogenados,* que ya hemos mencionado antes (pág. 192).

Principiaremos por el estudio de los albuminoides.

1.º Albuminoides

Su constitución. — Hemos definido anteriormente qué debe entenderse con esta denominación de *materias albuminoides* o *proteicas* (pág. 199). No nos proponemos hablar aquí de las diversas materias albuminoides contenidas en los vegetales. Nos limitaremos a dar una idea de su naturaleza, de su clasificación y de su estructura.

Los albuminoides vegetales tienen, poco más o menos, la misma composición y las mismas propiedades que los albuminoides animales, pero no son idénticos a ellos.

Las *albúminas vegetales* son solubles en el agua; se coagulan por el calor; los ácidos minerales y orgánicos muy diluídos no las precipitan. La sal común y el sulfato magnésico en solución saturada tampoco las precipitan, pero se efectúa la precipitación con un exceso de sulfato amónico. El tanino y el acetato básico de plomo las precipitan. Las albúminas dan un precipitado blanquecino en contacto con el yodomercuriato potásico en líquido acético (Tanret); forman, sobre todo en caliente, un precipitado de color rojo de ladrillo con el reactivo de Millon (solución nitrosa de nitrato de mercurio). El calor las coagula, y esta coagulación es completa en presencia de un ácido, aun en pequeñas proporciones (ácido acético). Su composición centesimal es algo variable: carbono: 53,0 a 54,3; hidrógeno: 6,8 a 7,2; nitrógeno: 15,6 a 17,6; oxígeno: 21,2 a 23,5; azufre: 0,9 a 1,5.

Las *globulinas* y *edestinas* son algo menos ricas en carbono, pero más ricas en nitrógeno (18,2 por término medio); no se disuelven en el agua sola, pero sí en las soluciones de cloruros alcalinos y, a

veces, en las de los carbonatos y fosfatos alcalinos. Se encuentran las globulinas en la harina de los cereales.

Las *fibrinas vegetales* están sobre todo formadas por la substancia conocida con el nombre de *gluten*. Este, tal como se extrae de la harina de los cereales, es una materia insoluble en el agua, formando con este líquido una pasta pegadiza. Se hincha por la acción del agua muy ligeramente acidulada con ácido clorhídrico y se disuelve poco a poco. El gluten no es una especie química.

Las *caseínas vegetales* son insolubles en el agua, solubles en los líquidos alcalinos débiles, en los carbonatos y fosfatos alcalinos: están frecuentemente mezcladas con las *nucleínas*, ricas en fósforo. Las caseínas vegetales se extraen de las harinas de muchas semillas desposeídas previamente de las albúminas y de las globulinas, mediante un lavado con agua salada al décimo. Después se lixivia la masa con alcohol del 75 por 100 y se hace actuar sobre ella una solución muy débilmente alcalina. Luego se precipitan las caseínas mediante el ácido acético muy diluído.

El *gluten-caseína* se obtiene lixiviando el gluten con alcohol; se disuelve el residuo en potasa diluída. Se trata en seguida con el ácido acético débil, y se lava el precipitado con agua, con alcohol frío y con alcohol caliente.

La *legúmina* es una caseína contenida en las harinas de las leguminosas, parte en estado soluble y parte en estado insoluble.

Las *gliadinas* son materias albuminoides contenidas en el gluten, solubles en el alcohol.

Las *vitelinas vegetales* o *conglutinas* son solubles en los cloruros alcalinos, en las soluciones alcalinas débiles, de donde el ácido acético y el ácido carbónico las precipitan. Se encuentran en algunos vegetales (semillas de ricino, nueces de Pará, semillas de calabaza, etc.). Los *granos de aleurona* constituyen la reserva nitrogenada de muchas semillas; se aproximan a las vitelinas vegetales. Se encuentran, ya en el albumen, ya en los cotiledones. Están formados por una substancia fundamental amorfa, por una membrana limitante (a veces ausente) y contienen frecuentemente inclusiones cristalinas *(cristaloides proteicos)* y *globoides*, combinaciones orgánicas que contienen cal y magnesia.

Se debe a Fleurent un método de separación de los diversos albuminoides contenidos en las semillas de los cereales y en las de las leguminosas.

Esta clasificación, del todo provisional y algo artificial de las materias albuminoides, desaparecerá el día en que su constitución esté completamente aclarada y, sobre todo, se conozcan sus síntesis. Entonces se clasificarán según la naturaleza de sus verdaderos productos de desintegración.

Las materias albuminoides son compuestos muy complejos, de peso molecular elevado. Los métodos que sirven para revelar, a lo menos parcialmente, su constitución son métodos de *hidratación* o de

hidrolisis. La fijación del agua en la molécula albuminoide ha dado un gran número de productos cristalizados, más sencillos, algunos de los cuales se encuentran normalmente en los vegetales.

La hidratación puede efectuarse mediante los álcalis, los ácidos y los fermentos. Éstos producen, como últimos productos de la descomposición, cuerpos análogos a los que da la acción de los ácidos.

El primer trabajo digno de interés relativo a los productos de descomposición de los albuminoides es debido a Schützenberger. Este autor calentaba en una autoclave la materia que se deseaba descomponer con agua y barita.

De sus investigaciones, Schützenberger ha deducido que los albuminoides son derivados de la *urea* y de la *oxamida*. En efecto, en la precedente operación se forman oxalato y carbonato báricos, así como amoníaco. Haciendo variar la concentración del álcali y operando con una cantidad moderada de barita, se obtienen derivados, todavía complejos, del grupo de los ácidos amínicos.

Estudios más recientes, hechos principalmente por E. Fischer y Kossel, han aclarado mucho la cuestión de la constitución de los albuminoides. Efectuando la descomposición de estas substancias con ácidos concentrados (ácido clorhídrico, ácido sulfúrico del 25 por 100) se han obtenido los siguientes resultados, de los que sólo diremos pocas palabras.

Los albuminoides podrían derivar de la *urea* $CO\langle{}^{NH^2}_{NH^2}$, que es un producto constante de su oxidación. Los albuminoides serían, pues, *ureidos*, es decir, compuestos obtenidos substituyendo 1 átomo de hidrógeno del radical NH^2 por un radical ácido. Sin embargo, actualmente se considera que los albuminoides son más bien *guaneidos*.

La *guanidina* $NH = C\langle{}^{NH^2}_{NH^2}$ forma, efectivamente, *guaneidos*, como la urea ureidos.

Entre los productos más interesantes obtenidos en la acción de los ácidos sobre los albuminoides, señalaremos los siguientes:

1.° La *arginina* o *guaneido oxiaminovaleriánico* $C^6H^{14}N^4O^2$. Esta substancia se encuentra en los cotiledones del altramuz germinado y ahilado. Una enzima especial, la *arginasa*, desdobla la arginina en urea y *ornitina* (ácido diaminovaleriánico normal).

2.° *Acidos amínicos monobásicos: leucina* (ácido aminocaproico) $C^6H^{13}NO^2$; *glicocola* (ácido aminoacético) $C^2H^5NO^2$; *alanina* (ácido aminopropiónico) $C^3H^7NO^2$; *butalanina* (ácido aminoisovaleriánico) $C^5H^{11}NO^2$; *prolina* (ácido pirrolidina α-carbónico) $C^5H^9NO^2$.

3.° *Acidos amínicos bibásicos: ácido aspártico* o *aminosuccínico* $C^4H^7NO^4$; *ácido α-aminoglutárico* $C^5H^9NO^4$.

4.° *Acidos aminosulfurados: cisteína* (ácido α-aminotioláctico) $C^3H^7NSO^2$; *cistina* (ácido diaminoditioláctico) $C^6H^{12}N^2SO^4$.

5.° *Acidos diamínicos: lisina* (ácido α. ε. diaminocaproico) $C^6H^{14}N^2O^2$; *histidina* $C^6H^9N^3O^2$.

6.° *Acidos amínicos monobásicos de la serie aromática: fenilalanina* (ácido α-amino-β-fenilpropiónico) $C^9H^{11}NO^2$; *tirosina* (ácido paroxi-β-fenil-α-aminopropiónico) $C^9H^{11}NO^3$.

7.° Sales amoniacales, materias no nitrogenadas y materias de apariencia húmica.

Según Kossel, las bases con 6 átomos de carbono, designadas por él con el nombre de *bases hexónicas: arginina* (véase antes), *lisina, histidina* (imidazol-alanina $C^6H^9N^3O^2$), deberían ser consideradas como el *núcleo fundamental* de la molécula de los albuminoides. A este núcleo se unirían diversos grupos: el número de los albuminoides sería, pues, muy grande.

En estos últimos tiempos se han hecho ensayos sintéticos para reconstruir la molécula albuminoide o, a lo menos, para remontar la escala de descomposición de los cuerpos albuminoides.

Así es que Fischer ha demostrado que se podían condensar 2 moléculas de ácidos amínicos y obtener un nuevo compuesto:

$$\underset{\text{Alanina}}{CO^2H - CH\,(NH^2) - CN^3} + \underset{\text{Glicocola}}{CH^2\,(NH^2)\,CO^2H} =$$

$$\underset{\text{Glicilalanina}}{CH^3 - CH\,(NH^2) - CO - NH - CH^2 - CO^2H} + H^2O$$

Estos nuevos compuestos han recibido el nombre de *péptidos*. La glicilalanina es un *dipéptido*. Mediante un método general, indicado por Fischer, se pueden preparar *polipéptidos* de cualquier complicación. Estos, lo que es capital, presentan ciertas analogías con las materias proteicas, porque muchos de ellos dan la reacción del *biuret*, característica de las albúminas y de las peptonas. Esta reacción consiste en añadir a la solución proteica un poco de sosa, y después, gota a gota, sulfato de cobre al centésimo. Se obtiene entonces una coloración rosada que pasa en seguida a azul violácea por adición ulterior de sulfato de cobre. Algunos polipéptidos, en contacto con la tripsina, se descomponen como las mismas albúminas.

Lecitinas. — Se da este nombre a substancias céreas, de aspecto grasiento, coloides, que, en contacto con el agua, aumentan de volumen. Contienen carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y fósforo. Su peso molecular es bastante elevado.

En contacto con los álcalis diluídos o una lipasa (Coriat) se desdoblan en *ácido fosfoglicérico, ácidos grasos satura-*

dos o no saturados (esteárico, palmítico, oleico) y *colina*.

La fórmula general es la siguiente:

$$C^3H^5 \left\langle \begin{array}{l} (C^nH^{2n-1}O^2)^2. \\ O.PO(OH).O.C^2H^4.N(CH^3)^3OH. \end{array} \right.$$

Las 2 moléculas de los ácidos grasos pueden ser idénticas o diferentes.

La colina o *hidrato de trimetilhidroetilenamonio* es una base nitrogenada.

El desdoblamiento de las lecitinas puede formularse del siguiente modo.

$$C^3H^5 \left\langle \begin{array}{l} (C^nH^{2n-1}O^2)^2. \\ O.PO(OH)O.C^2H^4.N(CH^3)^3.OH \end{array} \right. + H^2O = \underset{\text{Acido graso saturado}}{2\,C^nH^{2n}O^2}$$

$$+ \underset{\text{Acido fosfoglicérico}}{PO \left\langle \begin{array}{l} (OH)^2 \\ O - C^3H^5(OH)^2 \end{array} \right.} + \underset{\text{Colina.}}{(CH^3)^3N \left\langle \begin{array}{l} CH^2.CH^2.OH \\ OH \end{array} \right.}$$

Las lecitinas no son substancias albuminoides; están muy esparcidas en el reino animal y en el reino vegetal. Se extraen de los vegetales lixiviando la materia pulverizada con éter y luego con alcohol absoluto. Se evaporan lentamente los disolventes en una cápsula de platino y se determina el fósforo en el residuo. La lecitina diesteárica contiene 3,84 por 100 de fósforo, la lecitina dipalmítica 4,12 y la lecitina dioleica 3,86.

Algunas lecitinas, en vez de formar colina en su desdoblamiento, dan *betaína* $C^5H^{11}NO^2$.

Las lecitinas forman una parte importante del protoplasma. Se encuentran en todas las semillas, pero en proporciones muy variables: altramuces, 2,2 por 100; arvejas, 1,2; habas, 0,8; trigo, 0,65; adormideras, 0,25. Durante la maduración de las semillas, aumenta la cantidad de lecitina. Esta substancia no parece ser una materia de reserva; sin embargo, disminuye durante la germinación en la obscuridad, a lo menos en opinión de muchos experimentadores; aumenta cuando la germinación se efectúa normalmente a la luz.

Independientemente de su presencia en las semillas, se encuentran lecitinas en muchos órganos subterráneos: remolacha, raíces de malvabisco, de ipecacuana, de belladona, etc. Se hallan también lecitinas en las yemas, en las hojas, en todos los granos de polen; muchos hongos las contienen.

Parece existir cierta relación entre la riqueza de las semillas en albuminoides y su proporción de lecitina.

El modo de formación de las lecitinas es desconocido; su papel es muy obscuro. Para tratar de explicarlo, se ha emitido la siguiente hipótesis: formando aldehido metílico CH^2O la función clorofiliana, este aldehido se polimerizaría y formaría *aldehido glicérico* $C^3H^6O^3$. Engendrando glicerina la reducción de este aldehido, se efectuaría la unión del ácido fosfórico de los fosfatos con la glicerina y se formaría ácido fosfoglicérico.

Según Overton, las lecitinas tendrían gran importancia en los fenómenos osmóticos de las paredes celulares; según Lœw, desempeñarían un papel en los fenómenos respiratorios.

Veremos más adelante que la clorofila ha sido considerada como una lecitina especial.

Las lecitinas son saponificables por la lipasa.

Fosfátidos. — Cuando se tratan en caliente con ácidos diluídos las lecitinas extraídas de los cereales, se encuentran, junto con ácidos grasos, ácido glicerofosfórico y colina, así como cierta cantidad de materias azucaradas (16 por 100 aproximadamente) formadas por una mezcla de pentosas y hexosas. Se observa una cosa análoga en otras preparaciones de lecitinas. Las lecitinas obtenidas partiendo de los cereales son, pues, complejos fosforados, combinados con los hidratos de carbono. Por lo tanto, no se debería emplear el nombre de *lecitina* para designar todas las substancias orgánicas fosforadas solubles en el alcohol y el éter, que se encuentran en los vegetales; valdría más reunirlas bajo la denominación general de *fosfátidos* (Winterstein y Hiestand, 1906).

Nucleínas. — Estas substancias contienen cinco cuerpos simples como las lecitinas; algunas contienen, además, azufre.

Las nucleínas proceden del desdoblamiento de materias más complejas, las *nucleoalbúminas*. Las nucleínas son desdoblables, por la acción de los álcalis o de los ácidos, con formación de productos próximos a los albuminoides y de *ácidos nucleínicos,* en los cuales se concentra el fósforo. Por último, estos ácidos nucleínicos, a su vez, sometidos a la acción descomponente de los ácidos diluídos y calientes, se

descomponen en *bases xánticas* (xantina, adenina, hipoxantina, guanina) — es decir, en bases del grupo de la *purina*, frecuentemente encontradas en las semillas en germinación — y ácido fosfórico.

Los *nucleoproteidos* son albuminoides fosforados que se encuentran siempre en los núcleos de las células animales y vegetales. Son desdoblables por los álcalis o los ácidos diluídos, o por ciertas enzimas, en *nucleínas* y *globulinas*. Las nucleínas contienen unos 5 por 100 de fósforo.

Muchas nucleínas son *ferruginosas*. El hierro se encuentra en el embrión de la cebada en forma *nucleínica*. Petit ha aislado esta nucleína, que contiene 1,1 por 100 de fósforo y 0,195 de hierro; no contiene azufre.

Tarbouriech y Saget (1909) han extraído del polvo de *Rumex obtusifolius*, por medio del alcohol clorhídrico, un derivado orgánico ferruginoso con 6,36 por 100 de hierro.

Enzimas que actúan sobre las materias albuminoides o enzimas proteolíticas. — *Proteasas.* — En general, son fermentos hidrolizantes que actúan sobre las materias albuminoides o proteicas, insolubles o seudosolubles. Su acción, análoga a la del agua a presión o a la de los ácidos débiles, conduce a la formación de ácidos monoamínicos. Las proteasas no atacan a las nucleínas de los núcleos: lo hacen las *nucleasas* (véase más adelante), que los destruyen formando ácido fosfórico mineral y *bases púricas*. Estas últimas se hallan en muchos derivados vegetales, y es conveniente indicar aquí su estructura.

Bases púricas. — El núcleo común a todos estos cuerpos es la *purina* $C^5H^4N^4$, obtenida artificialmente por E. Fischer, y que se puede considerar como resultante de la reunión, por 2 átomos de carbono comunes, del núcleo *pirimídico* o *metadiacina* $C^4H^4N^2$ con el núcleo *glioxalina* $C^3H^4N^2$.

N, HC, CH, HC, N, CH

Piridimina

CH — N, CH, CH — NH

Glioxalina

CH (6), (1) N, C(5), NH (7), CH (8), (2) CH, C (4), N (9), N (3)

Purina

Ácido úrico $C^5H^4N^4O^3$
(2, 6, 8, trioxipurina)

Xantina $C^5H^4N^4O^2$
(2, 6, dioxipurina)

Teofilina $C^7H^8N^4O^2$
(1, 3, dimetil, 2, 6, dioxipurina)

Teobromina $C^7H^8N^4O^2$
(3, 7, dimetil, 2, 6 dioxipurina)

Cafeína $C^8H^{10}N^4O^2$
(1, 3, 7, trimetil, 2, 6, dioxipurina).

Proteasas en los vegetales.—Las proteasas son las substancias que, en las semillas en vías de germinación, hidrolizan las materias albuminoides de reserva, con formación de ácidos amínicos: leucina, tirosina, arginina, etc. Las primeras observaciones hechas sobre este punto son debidas a Gorup-Besanez (1874); pero, Green fué el primero que estudió el modo de actuar de estas enzimas en las semillas germinadas. El mejor conocido de los fermentos proteolíticos de las semillas es el de la cebada en germinación (Fernbach y Huber, 1900). La proteasa de la malta forma, a expensas de las substancias proteicas, albunosas, peptonas y, finalmente, ácidos amínicos. Las proteasas se encuentran en las raíces, bulbos y tubérculos de gran número de fanerógamas, así como en todos los hongos: mixomicetos, mohos, basidiomicetos.

Una proteasa, o *tripsina vegetal,* bien caracterizada, es la *papaína*, substancia contenida en el látex de la *Carica papaya* (bixácea). El látex del *Ficus carica* y del *F. macrocarpa* contiene también una tripsina. Una enzima del mismo género parece existir en las hojas de ciertas plantas llamadas *carnívoras.* (*Drosera; Dionæa).*

El zumo extraído por expresión de las semillas del altramuz y del trigo desdobla activamente algunos polipéptidos.

G. Bertrand y Muttermilch han descrito una *proteasa* (*glutenasa)* que hidroliza, con formación de tirosina, las materias proteicas del salvado y del gluten, como también la caseína de la leche de vaca. Esta proteasa actúa mejor en medios ácidos que en otros. Hemos visto antes (pág. 143) que, según estos dos autores, el sal-

vado de trigo contenía una *tirosinasa* muy resistente al calor. Han demostrado que el pardeamiento del extracto de salvado resultaba de la acción sucesiva de dos diastasas: la primera (glutenasa) pone en libertad una substancia que tiene los caracteres esenciales de la tirosina, la segunda (tirosinasa) fija el oxígeno en este producto con formación de una materia parda.

Cuajo vegetal.—El cuajo es una diastasa que, en medio neutro, coagula la caseína de la leche. Se encuentra en el jugo gástrico de los mamíferos jóvenes que se alimentan de leche y en el estómago de los adultos después de haber ingerido leche.

Una diastasa análoga ha sido encontrada en diversas ocasiones en algunos zumos vegetales. Se sabía que el zumo de algunas semillas en germinación (ricino), del *Galium verum* (cuajaleche), del *Pinguicula vulgaris,* etc., coagulaban la leche. El cuajo había sido indicado también en el zumo de diversas plantas y en los productos de secreción de ciertas mucedíneas.

Pero, Javillier (1902) fué el primero en demostrar que el cuajo, en realidad, está extremadamente esparcido en el reino vegetal. La mayor parte de las hojas de las plantas fanerógamas lo contienen; sólo algunas familias son inactivas en este concepto. En una misma familia se encuentran plantas activas y plantas inactivas.

El cuajo animal y el cuajo vegetal son diferentes.

Gerber ha señalado muchos tipos de acciones cuajantes.

El látex del moral de la China *(Broussonetia papyrifera)* contiene, como el jugo pancreático, tres diastasas muy activas, capaces de actuar sobre las grasas, los hidratos de carbono y los albuminoides. Pero, la actividad de estas diastasas varía con los diversos látex. En el látex del *Ficus carica* predomina la proteasa; el látex del *F. coronata* contiene una lipasa de actividad media, una proteasa muy activa y carece de amilasa (Gerber, 1911-1913). Los fermentos proteolíticos de los látex son tripsinas.

Caseasa.—Esta enzima destruye y liquida el coágulo formado por el cuajo. Se encuentra en los hongos superiores y en las fanerógamas.

Ureasa.—Takeuchi (1909) ha extraído de las semillas de soja *(Glycine hispida)* una ureasa que, puesta en contacto con la urea, transforma esta amida en amoníaco. Esta enzima no actúa más que sobre la urea y servirá para descubrir esta substancia, aunque esté sólo en indicios, en los jugos y en los órganos. La ureasa puede extraerse de muchos cultivos microbianos. Según Zemplen (1912), la mayoría de las papilionáceas contienen ureasa, mientras que las gramíneas carecerían de ella. Falk (1913) ha encontrado una ureasa en las semillas de ricino.

Nucleasa.—L. Iwanoff (1903) ha demostrado que el ácido nucleínico, extraído del timo se desdobla, por la acción de una enzima que él llamó *nucleasa*, en ácido fosfórico y bases púricas.

Esta nucleasa ha podido ser extraída del *Penicillium glaucum*, del *Aspergillus niger*, de diversos *Mucor*, de los gérmenes del altramuz. Según Teodoresco (1902), algunas algas inferiores son capaces de desintegrar la molécula del ácido nucleínico y de mineralizar el fósforo de este ácido.

2.° Amidas. — Ácidos amínicos

Hemos hablado ya de estas substancias a propósito de la destrucción artificial de los albuminoides. Pero la mayoría de ellas se encuentran *normalmente* en la planta. Limitémonos solamente a decir algunas palabras de sus representantes más notables.

Asparagina.—Es la amida del ácido aminosuccínico

$$CO^2H—CH^2—CH(NH^2)—CO.NH^2;$$

no se encuentra en los productos artificiales de la hidrolisis de los albuminoides. La asparagina es la amida más esparcida en el reino vegetal, y veremos cuál es su importancia en los fenómenos de la germinación. Se acumula de preferencia en las plantas ahiladas en la obscuridad absoluta, pero se halla normalmente en pequeñas cantidades en muchos tejidos vegetales Un litro de zumo de arvejas ahiladas puede contener hasta 40 gramos (Dessaigne). Cristaliza en prismas rómbicos; generalmente es levógira. A veces se encuentra una asparagina dextrógira junto con la anterior.

Acido aspártico o *aminosuccínico*

$$CO^2H-CH^2-CH(NH^2)—CO^2H.$$

Se encuentra algunas veces este ácido en las semillas; tal vez proceda de la acción del agua caliente sobre la asparagina en el tratamiento a que se someten las semillas para extraer esta última amida.

Leucina o *ácido aminoisocaproico*

$$(CH^3)^2CH-CH^2—CH(NH^2)-CO^2H.$$

Se ha encontrado en las semillas germinadas de muchas leguminosas, y también en las de calabaza. Cristaliza en láminas incoloras, poco solubles en el agua. La leucina es levógira.

Acido aminovaleriánico $NH^2.C^4H^8.CO^2H$. — La constitución del ácido que se halla en el altramuz amarillo y en las semillas de calabaza todavía es desconocida.

Glutamina o *ácido aminoglutánico*

$$CO^2H--CH(NH^2)-CH^2—CH^2—CONH^2.$$

Este ácido amínico es el más esparcido de todos después de la asparagina, a la que reemplaza casi completamente en muchas plantas. A veces la asparagina y la glutamina existen en proporciones casi iguales; otras veces, como ocurre en las semillas germinadas de helianto, se encuentra, ya un exceso de glutamina respecto de la asparagina, ya lo inverso. Parece que el procedimiento de cultivo tenga cierta influencia en las proporciones relativas de estas dos substancias.

Bases hexónicas (arginina, lisina, histidina). — Estos productos constantes de la hidrolisis artificial de los albuminoides se encuentran también en estado natural en los vegetales (semillas germinadas de altramuz, de calabaza, de *Soja*, semillas de coníferas, etc.).

Fenilalanina o *ácido* β-*fenil*-α-*aminopropiónico*

$$C^6H^5—CH^2.CH(NH^2).CO^2H.$$

Este ácido amínico ha sido encontrado primero en el altramuz amarillo; después se encontró en el altramuz blanco y en la *Soja hispida*. Existe en muchas leguminosas, así como en las semillas de calabaza germinadas.

Tirosina o *ácido paroxi*-β-*fenil*-α-*aminopropiónico*, o *paraoxifenilalanina*

$$HO—C^6H^4—CH^2—CH(NH^3)—CO^2H.$$

Este ácido amínico, muy esparcido en el reino vegetal (semillas germinadas de calabaza, altramuz, arveja, tubérculos de dalia y de diferentes plantas de la familia de las compuestas, bayas de saúco, tubérculos de patata, raíz de remolacha, bulbos de *Stachys tubifera)*. El zumo de remolachas o el de patatas toman al aire una coloración parda que sería debida, según Gonnermann, a la oxidación de la tirosina bajo la influencia de la tirosinasa con formación de *ácido homogentísico*, amoníaco y gas carbónico.

$$\underset{\text{Tirosina}}{C^9H^{11}NO^3} + O^2 = \underset{\text{Ac. homogentísico}}{C^8H^8O^4} + NH^3 + CO^2.$$

Urea o carbamida $CO(NH^2)^2$. — Indicada primero sólo en algunos hongos, esta amida ha sido encontrada por Fosse (1912-1913) en gran número de fanerógamas: achicoria, calabaza, col, nabo, espinaca, zanahoria, patata, etc. El zumo de *Aspergillus* y el de *Penicillium* la contienen. Los guisantes de un mes, cultivados en medio líquido aséptico, contienen urea (0,64 gr. en 1 Kg. de materia seca). El trigo, el trébol, las habas germinadas, también la contienen. El trigo, el maíz, y el guisante, en estado de reposo (semillas), contienen urea. Esta amida se acumula en los embriones de las habas; es rara o falta del todo en los cotiledones, después de seis semanas de germinación.

Se precipita la urea de los zumos vegetales por medio del *xanthidrol* (difenopirazol) $O\left[CH\begin{matrix}\diagup C^6H^4 \diagdown \\ \diagdown C^6H^4 \diagup\end{matrix}O\right]^2$; la combinación que se forma entonces es la *urea dixantilada* (Fosse).

La presencia de la urea en las plantas debe considerarse como un hecho general (Kiesel).

Observaciones sobre la presencia de las amidas. — Según Stieger (1913), ciertas plantas poseen la facultad de acumular en sus tejidos, ya la asparagina, ya la glutamina en grandes cantidades. Esta facultad parece ser una propiedad característica para todas las plantas de una misma familia. Las gramíneas, las liliáceas, las rosáceas, las leguminosas y las compuestas contienen siempre asparagina. Las poligonáceas, las crucíferas y las cariofiláceas acumulan siempre glutamina. Las umbelíferas y, probablemente, las labiadas y las solanáceas contienen las dos amidas aproximadamente en las mismas proporciones. Los órganos subterráneos contienen frecuentemente más arginina que asparagina o glutamina.

3.° Alcaloides vegetales

Señalemos, por último, entre los productos nitrogenados que se encuentran en los vegetales, los cuerpos de función básica muy marcada, que forman sales cristalizables con los ácidos: estos cuerpos son los *alcaloides*, caracterizados como bases por Sertuerner en 1817.

Estas substancias están muy esparcidas en el reino vegetal, pero desigualmente destribuídas en diversas familias de plantas. Raros en las monocotiledóneas, abundan sobre todo los alcaloides en las dicotiledóneas. Existen familias muy ricas en alcaloides: papaveráceas, solanáceas, ranunculáceas, rubiáceas, leguminosas; los alcaloides son excepcionales en las labiadas y en las compuestas.

La misma planta puede contener muchos (adormidera, quina); pero el mismo alcaloide se encuentra bastante raramente en muchas familias de plantas. Sin embargo, la *berberina* $C^{20}H^{17}N^4O^4$ ha sido encontrada en las cesalpiniáceas *(Andira)*, las rutáceas *(Xanthoxylon)*, las berberidáceas *(Berberis)*, las menispermáceas *(Cocculus)*, las anonáceas, las ranunculáceas y las papaveráceas; la *cafeína* $C^8H^{10}N^4O^2$

existe en las rubiáceas *(café)*, las ternstremiáceas *(te)*, las sapindáceas *(guaraná)*, las iliáceas *(mate)* y las esterculiáceas *(kola)*.

La *repartición* de los alcaloides es muy desigual. Se encuentran a veces en toda la planta, principalmente en los frutos y en las semillas, a menudo en la corteza. Los tejidos en vías de desarrollo activo son los que contienen de preferencia estas bases. Los alcaloides están disueltos en el jugo celular en el interior de la célula.

Generalmente no se encuentran en estado de libertad, sino *en estado de sales:* malatos, tanatos, quinatos, lactatos y meconatos.

Algunos alcaloides son ternarios: *nicotina* $C^{10}H^{14}N^{2}$, *conicina* $C^{8}H^{17}N$, *esparteína* $C^{15}H^{26}N^{2}$; los demás son cuaternarios: *quinina* $C^{20}H^{24}N^{2}O^{2}$, *cinconina* $C^{19}H^{22n}-N^{2}O$, *atropina* $C^{17}H^{23}NO^{3}$, *cocaína* $C^{17}H^{21}NO^{4}$, *morfina* $C^{17}H^{19}NO^{3}$, *estricnina* $C^{21}H^{22}N^{2}O^{2}$, etc. Algunos alcaloides han sido obtenidos por síntesis total.

Papel de los alcaloides.—Se deben especialmente a Clautriau, así como a Heckel y a Lotsy, importantes trabajos sobre el papel de los alcaloides en los vegetales.

Resulta de las investigaciones hechas sobre la *cafeína* que ésta no constituye un alimento de reserva utilizable por la planta. Entre las diferentes especies de *Coffœa*, unas *(C. liberica)* no contienen el alcaloide más que en sus partes jóvenes, otras *(C. arabica)* conservan cierta cantidad en sus hojas adultas. La cafeína es abundante en las semillas de la planta del café, el pericarpo no la contiene; en el te ocurre lo contrario: su semilla carece de cafeína. Durante la germinación de la semilla de la *Coffœa arabica*, la proporción de cafeína no disminuye; cuando esta semilla germina á la luz, se observa que la asimilación no provoca ninguna disminución de la cafeína y que ésta hasta tiende a aumentar. Pero, teniendo en cuenta la pérdida de peso experimentada por las plantitas, se observa que la proporción de cafeína sigue siendo la misma.

Si se ponen en la obscuridad plantas de café, la cafeína

no desaparece. El alcaloide no es, pues, una substancia de reserva como la fécula, que, en el vegetal ahilado, desaparece poco a poco. La cafeína no parece proceder de la función clorofiliana. Cuando se almacena en algún punto del vegetal, hay disminución concomitante del nitrógeno albuminoide, según demuestra el análisis.

En el te, cuyas semillas no contienen cafeína, se ve aparecer este alcaloide en la plantita a medida que progresa la germinación, tanto a la luz como en la obscuridad. La cafeína no desaparece después, ni a la luz, ni en la obscuridad; la planta no la utiliza para su desarrollo. La cafeína no puede suplir la falta de alimentos nitrogenados; no constituye una reserva nitrogenada y no representa una fase transitoria en la asimilación del nitrógeno, ni en la transformación de éste en materias albuminoides. Un exceso de alimentos nitrogenados, puesto en el suelo a disposición de la planta, no aumenta en ésta la proporción de cafeína.

La cafeína existe principalmente en las partes de la planta en que se manifiesta una gran actividad celular, es decir, en la extremidad de las ramas jóvenes en vías de crecimiento: allá es donde parece formarse.

Según esto, la cafeína procedería de la *destrucción de las materias nitrogenadas complejas*: es un producto de *regresión*, un desecho de la actividad de la célula (Clautriau).

La misma conclusión es aplicable a otros alcaloides: morfina en el género *Papaver*, atropina en el género *Atropa*, cocaína en la *Coca*.

La localización epidérmica y la acumulación de los alcaloides en las partes jóvenes parecen destinadas a proteger las hojas y las extremidades de las ramas contra la voracidad de los herbívoros o de las babosas. En las semillas, las diferentes localizaciones que se observan tienden todas al mismo objeto: la protección del embrión y de la joven plantita (Clautriau).

A estas concluciones de Clautriau se podrían, en realidad, oponer algunos hechos observados por Lotsy en las plantas de los géneros *Cinchona* y *Strychnos*, según los cuales, durante la noche, habría disminución de los alcaloides en las hojas.

Experimentos más antiguos debidos a Heckel (1890) tienden a demostrar que la estricnina del *Strychnos nux vomica* y la eserina del *Physostigma venenosum*, contenidas en las semillas de estas plantas, son *verdaderas reservas alimenticias* consumidas en la germinación.

Por lo que toca a la nicotina, cuyo empleo es tan eficaz en la destrucción de ciertos parásitos vegetales, Schlœsing hijo (1910) ha demostrado que el peso del alcaloide, elaborado por hectárea, baja considerablemente cuando se dejan crecer en los tallos todas las hojas, sin desmochar, ni despimpollar. El máximo de su producción corresponde a un número determinado de hojas que conviene investigar. La acción de fuertes proporciones de nitrato sódico no aumenta la cantidad de nicotina.

Dada la muy variada constitución química de los diversos alcaloides, es posible que algunos de ellos se conviertan, por efecto de transformaciones diastásicas, en substancias utilizables en un momento determinado, mientras que otros no serían más que productos de excreción inutilizables por el vegetal.

Se debe a G. Bertrand una curiosa observación relativamente a la ausencia de la cafeína en algunas *Coffæas*. El café de la Comora Mayor *(Coffæa Humblotiana)* no contiene indicios de cafeína. La *Coffæa arabica*, transportada y cultivada en puntos muy diferentes del globo, siempre ha mostrado contener cafeína. Resulta de esto que es preciso atribuir a la composición química del café de la Comora Mayor el valor de un verdadero carácter específico. Estas dos especies *(Coffæa arabica* y *C. Humblotiana)*, casi idénticas en sus órganos, se separan claramente por sus funciones fisiológicas.

La ausencia de un alcaloide determinado en ciertas plantas que normalmente lo contienen ha sido señalada a menudo. Así, la *cicuta mayor*, que ordinariamente contiene conicina, no tiene este alcaloide en Escocia.

Formación de los alcaloides en la planta.— Si se admite, como parece ser la opinión más probable hoy, que

los alcaloides no son productos de asimilación, sino productos de desecho del organismo vegetal, se debe buscar su origen en la destrucción de las materias proteicas.

Amé Pictet hace notar que la cafeína (o *trimetilxantina*) y sus congéneres, caracterizados por el doble núcleo de la *purina* (página 260), deben ser considerados como derivados de las *nucleínas* que contienen este mismo núcleo. La estricnina y la brucina (alcaloides de las loganiáceas) son derivados del *indol;* contienen los restos del grupo *triptofánico* de las albúminas.

El *triptofano* que se encuentra en la digestión trípsica de los albuminoides está, en efecto, en estrecha relación con el indol. Sería un *ácido indolaminopropiónico.* Los alcaloides que derivan de un núcleo pirrólico (nicotina, cocaína y atropina) proceden igualmente de las albúminas, porque hay formación constante de *ácido pirrolidín-α-carbónico* en la hidrolisis de todas las albúminas.

CH—CH / CH—CH / NH — Pirrol

CH^2—CH^2 / CH^2—CH^2 / NH — Pirrolidina

CH^2—CH^2 / CH^2—$CH.CO^2H$ / NH — Ác. pirrolidín-α-carbónico o prolino.

CH / CH—C—CH / CH—C—CH / NH — Indol

Los recientes trabajos de A. Pictet y Court hacen todavía más verosímil esta opinión. Estos sabios han encontrado en el tabaco, la pimienta, la zanahoria, el peregil, la coca—independientemente de los alcaloides ya conocidos,—substancias básicas muy volátiles, de constitución simple, como la *pirrolidina* (hidropirrol), todas las cuales contienen el núcleo del pirrol. Los albuminoides vegetales, así como la clorofila, que contienen con seguridad el mismo núcleo, deben ser considerados como la primera fuente de estas substancias básicas volátiles que constituirían los términos de desintegración más sencillos. Así los autores citados dan el nombre de *protoalcaloides* a estas bases volátiles; los alcaloides propiamente dichos no serían más que productos de condensación de éstas.

Muchos alcaloides contienen el *núcleo pirídico* C^5H^5N (alcaloides del opio, de la quina, de la pimienta, de la cicuta, etc.). Pero, el núcleo pirídico no existe en las albúminas, ni en la clorofila, ni en las nucleínas, ni en las lecitinas. La experiencia enseña que los derivados del pirrol se transforman fácilmente en derivados pirídicos por la introducción en su núcleo de un quinto átomo de carbono. Los alcaloides pirídicos podrían derivar, pues, de los alcaloides pirróli-

cos, y la cuestión consiste así en buscar cuál es, en el vegetal, la substancia que proporciona el átomo de carbono suplementario. Esta hipótesis, según hace notar A. Pictet, se funda en el hecho de que, en ciertos vegetales (coca, tabaco), existen simultáneamente bases de núcleo pirídico y bases de núcleo pirrólico. Además, el estudio de la constitución de muchos alcaloides (atropina, cocaína, nicotina) demuestra la unión del núcleo pirídico con el núcleo pirrólico en la misma molécula.

Se puede encontrar el origen del carbono suplementario que debe unirse a la molécula pirrólica teniendo en cuenta los siguientes hechos, todos ellos bien estudiados por A. Pictet (1).

En muchos casos los alcaloides de una misma planta, desde el punto de vista de su composición solamente, pueden ser dispuestos en *series homólogas:* uno o más átomos de hidrógeno del alcaloide más sencillo son reemplazados en sus congéneres por otros tantos grupos de *metilo* (CH^3). Este radical metilo es el único que ha sido encontrado; porque, hasta ahora, nunca se ha hallado, en una base vegetal, el radical etilo (C^2H^5) o un radical homólogo superior: *conicina* $C^8H^{17}N$ y *metilconicina* $C^8H^{16}N\ (CH^3)$; *arecaidina* (de la nuez de areca) $C^7H^{11}NO^2$ y *arecolina* $C^8H^{13}NO^2$; *benzoilecgonina* $C^{16}H^{19}NO^4$ y *cocaína* $C^{17}H^{21}NO^4$; *cupreína* $C^{19}H^{22}N^2O^2$ y *quinina* $C^{20}H^{24}N^2O^2$; *morfina* $C^{17}H^{19}NO^3$ y *codeína* $C^{18}H^{21}NO^3$, etc.

No existiendo este radical *metilo* en los productos de descomposición de las materias proteicas, es necesario admitir *que se ha introducido posteriormente en la molécula de los productos de desecho del organismo vegetal*, y que los alcaloides han sido sometidos a la acción de un agente metilizante: éste no sería otro que el *aldehido fórmico*, primer producto de síntesis de la asimilación clorofiliana.

El aldehido fórmico se condensa consigo mismo para formar los azúcares y la fécula, pero puede servir también de agente de metilización, como ha sido demostrado *in vitro*. Este aldehido es, pues, probablemente, el *agente metilizante* de la planta, y así se puede explicar por qué el radical metilo es el único que se halla, no sólo en los alcaloides, sino también en otros productos vegetales, con exclusión de todos los demás radicales homólogos. No es inverosímil, llevando más allá estas deducciones, la opinión de que el aldehido fórmico sea también la substancia que subministra a los derivados pirrólicos el átomo de carbono que les es necesario para convertirse en derivados pirídicos.

Según Ciamician y Ravenna (1912), la inoculación artificial de asparagina en el *Datura* y en el tabaco aumenta la proporción de los alcaloides en estos vegetales, como si estas substancias tuviesen por origen los ácidos amínicos. La proporción de la nicotina aumenta mucho en el tabaco que se somete a una iluminación solar intensa,

(1) Conferencia dada en la Sociedad química de París (*Bull. Soc. Chim.* 1906).

a una temperatura elevada, y al cual se dan abundantes abonos nitrogenados, pero una moderada cantidad de agua (Stützer y Goy, 1913). Esta última aserción estaría en contradicción con la opinión emitida por Schlœsing hijo (pág. 267).

Resumen.—El nitrógeno penetra en el vegetal provisto de clorofila en forma de *nitrógeno mineral*. Este nitrógeno mineral unas veces es el nitrógeno gaseoso de la atmósfera, otras el nitrógeno amoniacal o el nitrógeno nítrico. Cualquiera que sea su origen, el nitrógeno mineral se convierte siempre en nitrógeno proteico o albuminoide. Los productos de destrucción de éste son amidas, ácidos amínicos, alcaloides y probablemente también clorofila.

El mecanismo de la síntesis de los albuminoides en la planta es actualmente muy poco conocido, y no se pueden reconocer en la misma planta, más que de un modo muy imperfecto, los términos intermedios que, *a priori*, deben existir entre el nitrógeno mineral y los hidratos de carbono por una parte, y los albuminoides por otra. Estos términos intermedios son probablemente las numerosas amidas y ácidos amínicos que frecuentemente se hallan en pequeña cantidad junto a los albuminoides en las condiciones normales de la vegetación. Esto parece probable; porque, en ciertas circunstancias especiales, tales como las que acompañan a los fenómenos de germinación y de ahilamiento, estas amidas se vuelven más abundantes, si no más variadas, y constituyen con seguridad los productos de regresión de la materia proteica destinados ulteriormente a condensarse de nuevo en forma de albuminoides.

En cuanto a los alcaloides, tan interesantes desde el punto de vista terapéutico, no parecen ser más que productos de destrucción de los albuminoides, inasimilables por las plantas.

CAPÍTULO VI

CLOROFILA Y PIGMENTOS VEGETALES

Clorofila.—Constitución y derivados de la clorofila.—Propiedades físicas de la clorofila; espectro de absorción.—Propiedades fisiológicas de la clorofila.—Carotina.—Xantofila.—Antocianas.

Con el estudio de la asimilación y con el de la aparición de los principios inmediatos, está íntimamente relacionado el conocimiento de las propiedades de algunos pigmentos vegetales y, en primer término, el de la clorofila.

I

CLOROFILA

Los *leucitos* o *plástidos* constituyen uno de los elementos de la célula vegetal incluídos en su protoplasma. Estos leucitos son corpúsculos granujientos, vivos, destinados a elaborar ciertos principios esenciales para la existencia del vegetal. De estos leucitos unos son incoloros y otros están cargados de diversas materias colorantes. La clorofila es precisamente una de estas materias colorantes, de composición compleja, que impregnan los leucitos: éstos toman entonces el nombre de *cloroleucitos* o *cloroplástidos*. Se llaman *cromoleucitos* o *cromoplástidos* los leucitos cargados de variadas materias colorantes que se encuentran en las flores y en los frutos.

Los cloroleucitos están formados por una materia protoplasmática incolora, que está impregnada de un pigmento

verde o *clorofila*. Gracias a la presencia de este pigmento la planta es capaz de asimilar el gas carbónico de la atmósfera.

Ordinariamente la clorofila no existe más que en las partes verdes del vegetal que reciben la luz solar; se encuentra en ciertas raíces aéreas de orquídeas. La clorofila generalmente está *localizada* en el protoplasma celular; raramente se encuentra difundida en él.

La clorofila *en su sitio propio* es una materia viviente; cuando ha sufrido una desecación prolongada o la acción de una elevada temperatura, se vuelve incapaz de funcionar. El pigmento verde siempre va mezclado con otras dos materias colorantes: la una es amarilla, es la *xantofila*; la otra es roja, es la *eritrofila* o *carotina*. Volveremos más adelante a ocuparnos en estas dos últimas substancias.

La clorofila propiamente dicha es un pigmento muy alterable; tan pronto como ha salido de la célula es incapaz de desempeñar el papel que tenía cuando estaba en su sitio propio.

Esta *clorofila química* goza, sin embargo, de algunas propiedades comunes con la clorofila en las hojas: el estudio espectroscópico enseña, en efecto, según la mayoría de los autores, que el espectro de absorción de estas dos clorofilas es poco más o menos el mismo ¿Existen muchas especies de clorofila? Esto ha sido sostenido muchas veces; actualmente parece que esta cuestión ha sido resuelta en sentido negativo.

Es considerable el número de trabajos publicados sobre la clorofila; su estructura química ha sido objeto de notables investigaciones hechas en estos últimos años. Parece que el núcleo fundamental de esta substancia es el mismo que el de la materia colorante de la sangre, la *hemoglobina*.

Nos limitaremos aquí a las nociones indispensables relativas: 1.°, a la preparación y a las propiedades químicas de la clorofila; 2.°, a sus propiedades físicas; 3.°, a su papel fisiológico.

Preparación de la clorofila.—Una materia dotada de propiedades reductoras tan enérgicas como el pigmento clorofiliano, debe evidentemente experimentar, en el curso de las diferentes manipulaciones destinadas a aislarla, profundos cambios. He aquí lo que

ocurre cuando se hacen actuar variados disolventes sobre la pulpa de las hojas verdes (espinacas, berros, etc.). La clorofila es insoluble en el agua; es más o menos completamente soluble en el alcohol, el éter, el petróleo, el sulfuro de carbono, el cloroformo y la bencina. Si se evapora una de estas soluciones, queda un residuo verde, de aspecto céreo, que contiene, además de las materias pigmentarias, ceras, resinas, ácidos y sales orgánicas, materias minerales. La substancia verde así obtenida ha sido designada con el nombre de *clorofilana* por Hoppe-Seyler, para distinguirla de la clorofila verdadera tal como se halla en las hojas.

Cuando se quiere extraer la materia verde de las hojas, haciéndole sufrir las menos alteraciones posibles, se debe operar al abrigo del aire y de la luz y proceder a la lixiviación de las hojas mediante un disolvente apropiado en poco tiempo.

Se deben a Sennebier, a últimos del siglo XVIII, los primeros trabajos relativos a la materia verde de las hojas. Este experimentador observó que una solución alcohólica de esta substancia se descoloraba al cabo de algún tiempo en contacto con la luz; observó, además, que los ácidos concentrados destruían el pigmento y que los álcalis parecían no actuar sobre él.

Pelletier y Caventou, en 1819, trataron de aislar la materia verde; la consideraron como una substancia especial, rica en hidrógeno, que se aproximaba a muchas materias colorantes vegetales, descolorable por el cloro y soluble sin descomposición en los álcalis. Propusieron darle el nombre de *clorofila*.

En un trabajo hecho en 1860, Frémy demostró que, si se trata una solución alcohólica de clorofila por el ácido clorhídrico y el éter, la materia colorante se desdobla en otras dos: una amarilla, la *filoxantina*, que se disuelve en el éter, y otra verdosa, la *filocianina*, que queda en la capa inferior del líquido rico en ácido clorhídrico. Estas dos substancias han sido estudiadas, después del trabajo de Frémy, por Schunck y Marchlewski.

A. Gautier, Hoppe-Seyler y Rogalsky, poco más o menos en la misma época, han indicado un modo de preparación de lo que ellos han llamado *clorofila cristalizada*. Gautier emplea las hojas de espinacas o de berros. Fija con negro animal la materia colorante extraída por el alcohol y trata luego el negro animal por éter. Evaporada lentamente en la obscuridad, de la solución verde se separa la clorofila cristalizada en forma de agujas blandas, de color verde intenso, muy alterables por la luz. Las cenizas de esta materia no contienen hierro; hay en ellas fosfatos, magnesia, cal y ácido sulfúrico.

Rogalsky ha encontrado, para la clorofila extraída del *Lolium perenne*, la siguiente composición: carbono, 73,19 a 72,83; hidrógeno, 10,50 a 10,25; nitrógeno, 4,14; cenizas 1,67 a 1,63. Estas cifras son muy parecidas a las que da Hoppe-Seyler.

Este último autor, operando a corta diferencia como Gautier, ha obtenido cristales de aspecto córneo, pardos a la luz refractada y de

color verde obscuro a la luz reflejada. Hoppe-Seyler llama *clorofilana* a esta substancia. Según él, no existiría formada en las plantas y sería el resultado de la oxidación de la materia verde verdadera debida al procedimiento empleado para extraerla.

El examen de las cenizas de la clorofilana condujo a Hoppe-Seyler a emitir una idea original sobre la naturaleza de la clorofila. Cuando se desdobla la clorofilana mediante los álcalis, se obtiene ácido glicerofosfórico, un ácido especial, llamado por el autor *ácido clorofilánico*, así como una base, idéntica a la *colina*. La clorofilana sería, pues, una lecitina (pág. 256) de naturaleza especial, en la cual los ácidos grasos estarían reemplazados por el ácido clorofilánico. Esta idea de la naturaleza *lecitínica* de la clorofila ha sido resucitada por Stoklasa.

II

CONSTITUCIÓN DE LA CLOROFILA. DERIVADOS DE LA CLOROFILA

Es imposible exponer aquí, aunque sea brevemente, los numerosos trabajos relativos a la clorofila que han seguido a los que acabamos de mencionar. Citaremos, sin embargo, sin detenernos en ella, la larga serie de investigaciones hechas por Schunck y Marchlewski, consignadas en un opúsculo de este último (*Die Chemie des Chlorophylls*, 1895). Vamos a hacer a continuación una reseña extremadamente corta de los interesantes hechos descubiertos en los últimos años por Willstätter y sus discípulos. Estos trabajos fueron publicados de 1906 a 1912 en los *Liebig's Annalen der Chemie*. Una obra de conjunto, titulada *Untersuchungen über Chlorophyll* (de R. Willstätter y A. Stoll, Berlín, 1913), los resume de una manera magistral (1).

Dado el gran número de plantas examinado y la notable constancia de los resultados obtenidos, se puede considerar que estas investigaciones señalan una etapa muy importante hacia la solución de un problema que tiene un interés de primer orden.

Willstätter llega a esta conclusión: *la clorofila es un derivado órganomagnésico*. El magnesio forma parte integrante de su molé-

(1) Es interesante la Memoria del Dr. Enrique Herrero Duclaux, *Interpretación química de la función clorofílica* (Barcelona, 1917) publicada por la Real Academia de Ciencias y Artes de Barcelona.—C. B.

cula con exclusión de todo otro cuerpo fijo. Veremos más adelante qué consecuencias pueden deducirse de la presencia de este metal desde el punto de vista de la asimilación.

Los pigmentos contenidos en las hojas verdes son cuatro: *dos clorofilas (a* y *b)*, la *carotina* y la *xantofila*.

Para proceder a la extracción de la clorofila es conveniente emplear hojas desecadas a la temperatura ordinaria (en el vacío) y hacer actuar *en frío,* sobre la materia finamente pulverizada, disolventes neutros apropiados con cierto grado de hidratación. En efecto, el pigmento verde se encuentra en los cloroplastos, aun después de la desecación, en forma coloide. Es coagulado por el agua que contienen los disolventes, porque esta agua disuelve las sales minerales (nitratos) de las hojas, lo cual facilita el contacto de los disolventes con la materia colorante.

He aquí, en dos palabras, la naturaleza del tratamiento. Se somete el polvo de las hojas secas a la acción de la acetona del 80 por 100. Mediante un fraccionamiento sistemático, hecho en frío con alcohol metílico acuoso y con éter de petróleo, se separa la clorofila en bruto en dos componentes. El uno, la clorofila *a*, se encuentra en el éter de petróleo; el otro, la clorofila *b,* en el alcohol metílico. La primera es un polvo azul negruzco, cuya fórmula es $C^{55}H^{72}O^{5}N^{4}Mg + {}^{1}/_{2} H^{2}O$. La segunda, menos abundante, es un polvo de color verde obscuro, casi negro; parece ser un producto de oxidación de la anterior. Su fórmula es $C^{55}H^{70}O^{6}N^{4}Mg$. Considerada en su conjunto, la clorofila es microcristalina, sin punto de fusión marcado, soluble con color verde en el alcohol absoluto, el éter, la bencina, el cloroformo y el sulfuro de carbono; muy poco soluble en el éter de petróleo, a menos que este líquido esté adicionado de una pequeña cantidad de alcohol metílico o etílico.

El rendimiento, por kilogramo de hojas secas, oscila entre 6 y 8 gramos.

La clorofila es un *éter-sal.* Porque, puesta en frío en contacto con sosa disuelta en alcohol metílico, forma una substancia $C^{20}H^{40}O$, el *fitol,* producto oleoso, que destila en el vacío a 145°, cuyas reacciones le aproximan a los alcoholes terpénicos.

Por otra parte, se forma, en esta acción de la sosa, una combinación sódica de una nueva materia, la *clorofilina,* estable en presencia de los álcalis, descomponible por los ácidos y que posee los caracteres de un ácido tribásico de fórmula $C^{31}H^{29}N^{4}Mg(CO^{2}H)^{3}$ (*¿alkaclorofila* de los antiguos autores?).

Tratada por los ácidos diluídos, la clorofila cede su magnesio y se convierte en *feoforbina* $C^{31}H^{31}N^{4}(CO^{2}H)^{3}$. Dada la estabilidad de la clorofila en presencia de los álcalis, aun a elevada temperatura, el magnesio no puede estar unido con los grupos ácidos; parece que está unido con el nitrógeno y comportarse en la clorofila como el hierro en la hematina.

En la molécula de la clorofila, una de las funciones ácidas está

eterificada por el fitol; otra, por el grupo metilo: la clorofila es, pues, el éter fitílico y metílico de la clorofilina; es una *fitilmetilclorofilina:*

$$C^{32}H^{30}ON^{4}Mg\left\langle\begin{matrix}CO^{2}.CH^{3}\\CO^{2}.C^{20}H^{39}.\end{matrix}\right.$$

Por la acción de una diastasa, la *clorofilasa*, esparcida en todos los vegetales, la clorofila, abandonada a sí misma en solución alcohólica, forma *clorofila cristalizada* (cristales hexagonales), que es un producto de transformación de la primera, separándose fitol:

$$C^{32}H^{30}ON^{4}Mg\left\langle\begin{matrix}CO^{2}.CH^{3}\\CO^{2}.C^{20}H^{39}\end{matrix}\right. + C^{2}H^{5}.OH = C^{32}H^{30}ON^{4}Mg\left\langle\begin{matrix}CO^{2}.CH^{3}\\CO^{2}.C^{2}H^{5}\end{matrix}\right.$$

Etilclorofilida

$$+ C^{20}H^{40}O.$$

Fitol

La clorofila cristalizada (etilclorofilida) había sido obtenida ya por Borodin (1882) y Monteverde (1893).

La proporción de fitol contenida en la clorofila de más de 200 plantas asciende al tercio aproximadamente del peso de la molécula de la misma. Las clorofilas de diverso origen contienen la misma proporción de magnesio y de fitol: la clorofila es, pues, siempre idéntica.

Acabamos de ver cómo se comporta la clorofila con los álcalis en frío. La acción de los ácidos sobre este pigmento es muy distinta. Los ácidos separan el magnesio de la molécula, y se forma una nueva substancia, la *feofitina*. Esta no contiene magnesio; se aproxima a los productos llamados antes *filoxantina* y *clorofilana*. La feofitina es también un éter cuya saponificación produce fitol, a la vez que diversas materias de carácter ácido: las *fitoclorinas* y las *fitorodinas*. Las primeras tienen color verde oliva en solución neutra y verde azulado en solución ácida; las segundas son verdes en solución ácida, rojas en solución neutra y presentan una hermosa fluorescencia.

La feofitina se combina con los metales pesados (Zn, Cu, Fe), propiedad señalada ya respecto de un producto de transformación de la clorofila llamado antes *filocianina* (pág. 273).

Por la acción de las bases, a 140°, la clorofilina engendra nuevos derivados coloreados, que todavía contienen magnesio (*glaucofilina*, *rodofilina*). Estos, tratados por los ácidos, dan, con pérdida de magnesio, *porfirinas*, cuerpos especialmente interesantes (véase más adelante) a causa de su próximo parentesco con la *hematoporfirina*, derivada de la hematina de la sangre. (Respecto de todos los

trabajos sobre la clorofila, consúltese la obra: Gzapek, *Biochemie der Pflanzen*, t. I, pág. 555, Jena, 1913.)

Comparación entre la materia colorante de la sangre y la de las hojas.—Se da el nombre de *hemoglobinas* a las materias colorantes de los glóbulos sanguíneos de los animales vertebrados; existen muchas hemoglobinas cuya composición varía con la especie animal considerada. Las hemoglobinas presentan la propiedad de unirse con diferentes gases y, entre ellos, con el oxígeno, para formar las *oxihemoglobinas*. Estas, tratadas a la temperatura de la ebullición con ácidos o con bases, se descomponen formando substancias proteicas y una materia colorante ferruginosa, la *hematina* $C^{32}H^{32}N^{4}O^{5}Fe$. Calentada con ácido sulfúrico diluído, la hematina da una substancia violácea, casi negra, exenta de hierro, conocida con el nombre de *hematoporfirina:*

$$\underset{\text{Hematina}}{C^{32}H^{32}N^{4}O^{4}Fe} + 2\,H^{2}O - Fe = 2\,\underset{\text{Hematoporfirina}}{C^{16}H^{18}N^{2}O^{3}}.$$

La hematoporfirina es casi idéntica a la *bilirubina,* que es una de las materias colorantes de la bilis.

La hematina y la hematoporfirina dan por reducción *hemopirrol* (isobutilpirrol $C^{8}H^{13}N$). Este, en contacto con el aire, se transforma en una substancia roja, que parece idéntica a uno de los pigmentos de la orina, la *urobilina.*

La acción de los reductores sobre las fitoclorinas, las fitorodinas y las porfirinas, substancias derivadas de la clorofila, da una mezcla de bases pirrólicas. El núcleo común de las materias colorantes de la sangre, de la orina y de la clorofila, sería, pues, el *pirrol* o, a lo menos, uno de sus derivados. Muchos alcaloides, como hemos dicho anteriormente (pág. 268), contienen igualmente el núcleo pirrólico:

Hemopirrol	Isohemopirrol	Filopirrol
$CH^{3}.C$ —— $C.C^{2}H^{5}$	$CH^{3}.C$ —— $C.C^{2}H^{5}$	$CH^{3}.C$ —— $C.C^{2}H^{5}$
CH ‖ ‖ $C.CH^{3}$	$CH^{3}.C$ ‖ ‖ CH	$CH^{3}.C$ ‖ ‖ $C.CH^{3}$
NH	NH	NH

Schunck y Marchlewski habían obtenido antes un derivado de la clorofila, que denominaron *filoporfirina,* de fórmula parecida a la de

la hematoporfirina. Estas dos porfirinas daban el mismo hemopirrol y sus espectros de absorción eran casi idénticos.

Papel del magnesio en la molécula clorofiliana.—En su cualidad de compuesto órganomagnésico, la clorofila desempeñaría, según Willstätter, un papel capital en la asimilación del carbono.

En efecto, Grignard ha demostrado que los compuestos órganomagnésicos del tipo RMgBr ($R = CH^3, C^6H^5$, etc.) tratados por el gas carbónico, absorben este gas. La combinación que así se forma, descompuesta por el agua, produce un ácido:

$$RMgBr + CO^2 = CO\langle^{OMgBr}_{R}.$$

$$CO\langle^{OMgBr}_{R} + H^2O = R.COOH + MgBr.OH.$$

Los compuestos órganomagnésicos de la clorofila se comportarían de una manera análoga. El magnesio sería el metal cuya acción *catalítica* provocaría la síntesis clorofiliana: sería el *metal sintético* por excelencia.

Se podría imaginar que, en virtud de la afinidad que tiene respecto de los compuestos órganomagnésicos, el gas carbónico es atraído por la clorofila *a*. Esta, por efecto del desprendimiento de la energía luminosa absorbida, se transformaría en clorofila *b*. A consecuencia del desprendimiento del oxígeno, característico de la función clorofiliana, la clorofila *b* se convertiría de nuevo en clorofila *a*. Se trataría aquí, pues, de un fenómeno de equilibrio. Los otros dos pigmentos, *carotina* y *xantofila* (véase más adelante), cuya presencia es constante en las hojas y que están íntimamente unidos a la clorofila, no serían tal vez extraños a las reacciones de síntesis a que ésta da lugar.

III

PROPIEDADES FÍSICAS DE LA CLOROFILA

Espectro de absorción. — Cuando se examina con el espectroscopio una disolución de clorofila en un disolvente apropiado, se observa que el espectro continuo del manantial luminoso (la llama de un mechero de gas, por ejemplo) está interrumpido por muchas *bandas de absorción,* cuya posición, anchura e intensidad varían entre límites bastante amplios con la concentración del líquido y la reacción ácida o alcalina del medio. Se deben a Brewster (1834) las primeras observaciones sobre esta materia. El número de bandas descritas varía con los autores: primero se describieron siete; Chautard reduce este número a seis y hace notar que no existen más que cuatro bandas bien visibles. En realidad, una solución reciente de clorofila no da más que tres.

Influencia de la concentración del líquido. — Según Chautard, si se examina con el espectroscopio una solución alcohólica concentrada, de conveniente espesor, se observa que no deja pasar por de pronto más que el extremo rojo. Una solución menos concentrada deja ver el rojo, después sigue una banda negra que se extiende hasta más allá de la raya D. La absorción luminosa es tan completa que la raya del sodio deja de ser visible cuando se introduce en la llama un hilo de platino impregnado de sal común. El verde es muy brillante, después hay extinción total.

Una disolución todavía más diluída presenta cuatro bandas bastante marcadas: la primera entre las rayas B y C del espectro solar, la segunda un poco a la izquierda de la raya D, la tercera en el nacimiento del amarillo y del verde, y la cuarta en el verde. Más allá la absorción es completa.

Si se opera con una disolución muy diluída, se observa que la primera banda de absorción se estrecha (entre B y C), las otras disminuyen de anchura y de intensidad. Hasta des-

aparecen totalmente, mientras que la primera *sigue siendo muy aparente y muy negra.*

No es necesaria la reunión de todas estas bandas para caracterizar la clorofila; basta la primera sola para consti-

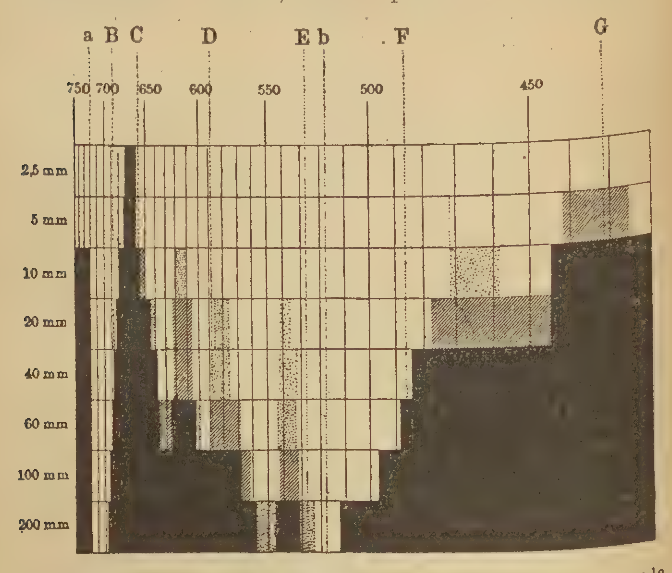


Fig. 8.—Espectro de la clorofila cristalizado, según Willstätter y Benz, con la concentración de 0 gr. 1 en 5 litros de alcohol. A la izquierda, espesor en milímetros de la capa de la disolución; arriba, longitudes de honda y posición de las rayas del espectro solar.

tuir, en el caso de la clorofila pura, y aun alterada, un *carácter específico* de gran sensibilidad. Esta banda aparece todavía cuando todas las demás han desaparecido y esto en las plantas más diversas.

En resumen, las bandas de absorción de la clorofila disuelta en un disolvente apropiado se dividen en dos categorías bien definidas: primero la *banda específica* entre B y C, después las bandas supernumerarias, visibles con soluciones más concentradas.

He aquí, expresados en longitud de onda, los valores de

las bandas de absorción: 1.º, de la clorofila en las hojas 2.º, de la clorofila en solución alcohólica medianamente concentrada:

	Hojas vivas	Solución alcohólica
Banda I	de λ 700 a λ 650	de λ 670 a λ 635
— II	— 630 — 618	— 622 — 591
— III	— 600 — 578	— 587 — 565
— IV	— —	— 543 — 530

(Corresponden los principales colores a las siguientes longitudes de onda: ultravioleta extremo, 222 a 103; ultravioleta medio, 300 a 222; ultravioleta ordinario, 392 a 300; violeta, 423; añil, 449; azul, 475; verde, 512; amarillo, 551; rojo, 620; raya D, 589.)

La solución de clorofila en el alcohol presenta una hermosa fluorescencia roja. El espectro de la luz fluorescente consiste en una sola banda situada en la parte menos refrangible del espectro cuya longitud de onda está comprendida entre 680 y 620. Según Étard, una solución de clorofila del *Lolium perenne* al $\frac{1}{500000}$ no da más que una sola sombra estrecha en todo el espectro en el punto $\lambda = 681,5$. La banda principal de la clorofila no sería simple: con una dilución de $\frac{1}{50000}$, en el intervalo precedente a un negro uniforme aparecen tres bandas. No se puede fijar el centro de una banda algo ancha más que por diluciones graduales.

Las clorofilas naturales disueltas en el éter no presentarían en el ultravioleta más que una sola banda de absorción (λ eje=304 aproximadamente) (Dhéré y de Rogowski, 1912).

Modificaciones producidas en la clorofila por la acción luminosa.—El examen espectral demuestra que una solución de clorofila experimenta a la larga profundas alteraciones. Estas alteraciones son rápidas bajo la acción de la luz. Si se expone al sol una solución de clorofila, ésta no deja pasar al principio más que el rojo extremo; luego, continuando la acción de la luz, aparecen las bandas de absorción que hemos descrito anteriormente. A medida que la solución cambia de color, por efecto de la alteración producida por la luz solar, y toma un color cada vez más claro, las bandas supernumerarias desaparecen. Las soluciones de clorofila en los aceites

fijos (de belladona o de beleño de las farmacias) presentan, por el contrario, un poder de resistencia muy pronunciado; no se alteran más que de una manera inapreciable al cabo de muchos meses de exposición al sol. Es probable que la persistencia de la materia verde de muchas hojas en el otoño, es debida precisamente a la presencia de materias grasas y resinosas contenidas en el interior de los tejidos.

El estado de *división* favorece la destrucción de la clorofila. Las hojas contundidas, y puestas en suspensión en el agua, pierden bastante aprisa su materia verde al aire y a la luz, mientras que, desecadas intactas a la luz, conservan en su interior una cantidad suficiente de materia verde capaz de dar a las soluciones alcohólicas el aspecto de una solución de clorofila fresca.

La descoloración de los vegetales, en plena luz, ocurre en muchas plantas parásitas y saprofitas. Una abundante nutrición hidrocarbonada asimilable produce, enplena luz, una descoloración más o menos considerable. Si, por el contrario, se añade a esta alimentación hidrocarbonada asimilable (por ejemplo, glucosa) una alimentación nitrogenada suficiente y, sobre todo, uua alimentación nitrogenada compleja (peptona), la clorofila persiste, aun en presencia de una fuerte concentración de azúcar.La desaparición de la clorofila en las plantas citadas parece, pues, resultar de una falta de equilibrio entre la formación de materias azucaradas y la producción de materias proteicas (Chodat).

Acción de los rayos de diversos colores.—Para estudiar las modificaciones que experimenta el espectro de la clorofila bajo la acción de los diversos colores, se emplean dos tubos de vidrio concéntricos: el tubo interior contiene la solución de clorofila y el exterior está lleno de una solución coloreada (roja, verde, azul, etc.). Se expone este aparato al sol durante tiempos iguales, y se examina luego mediante el espectroscopio el contenido del tubo interior. Se observa que los rayos amarillos producen modificaciones espectrales tan rápidas como la misma luz blanca; siguen después los rayos rojos y luego los rayos azules.

Si se llena una campana de una solución alcohólica de clorofila y se inmerge en este líquido otra campana que contenga la misma solución, la clorofila de esta última no experimenta modificaciones mientras dura la protección ejercida por la solución exterior, la cual, sin embargo, poco a poco se descolora. Pero, si se substituye la campana interior por un tubo que contenga plantas ahiladas, éstas se vuelven verdes: la clorofila de la campana exterior es incapaz, aun cuando está intacta, de retener las radiaciones eficaces para producir el reverdecimiento. Sachs deduce de esto que las radiaciones que destruyen la clorofila difieren de las que provocan el reverdecimiento.

Reinke emplea fuentes luminosas que contienen grupos de rayos exactamente comparables y de igual intensidad. Consigue este resultado por medio de un espectro normal y un sistema de siete lentes

que dejan pasar haces de luz cuantitativamente iguales: la lente que recibe los rayos rojos es más estrecha que la destinada a recibir los rayos violados. Con esta disposición, Reinke ha encontrado que el poder descolorante estaba claramente en relación con el espectro de absorción de la clorofila: el rojo y el anaranjado poseen el poder descolorante máximo, pero el azul y el violeta son también muy activos en este concepto. Esta alteración rápida parece que debe atribuirse a una oxidación (Jodin, Pringsheim). La luz eléctrica ejerce sobre la clorofila una acción destructora muy intensa; cuando esta luz está rodeada de un vidrio transparente que detiene los rayos ultravioletas, los efectos destructores no se presentan: es, pues, según Dehérain, la parte más refrangible del espectro la que ejerce la acción más viva sobre la clorofila.

La desaparición de la clorofila por la acción de la luz puede todavía observarse en las siguientes condiciones, indicadas por Dangeard (1910). Se incorpora al colodión fotográfico una solución alcohólica de clorofila; se extiende en capa delgada encima de una lámina de vidrio y se expone ésta en seguida a la acción de un espectro muy puro. Por la acción de ciertos rayos, la clorofila se descolora, mientras que permanece inalterada en los demás puntos. La descoloración se efectúa por de pronto, y completamente, en la parte que corresponde a la banda principal de absorción de la clorofila, y se extiende luego progresivamente en la región próxima, que contiene las otras tres bandas de absorción. La segunda mitad del espectro no ha mostrado, hasta ahora, ningún efecto apreciable, aun cuando la lámina haya permanecido ocho días sometida a la acción del espectro.

Espectro de las hojas vivas. — Si, en vez de operar con una solución de clorofila en un disolvente apropiado, se hace pasar la radiación solar a través de una hoja viva, se observa que el espectro de la luz transmitida presenta todos los caracteres de la que ha atravesado una solución de clorofila medianamente concentrada, en cuanto al número de bandas de absorción. De todos modos, en el espectro de las hojas vivas, todas las bandas han retrocedido hacia la extremidad roja del espectro. Las causas de este *retróceso* de las bandas de absorción podrían ser explicadas de la siguiente manera: o bien el espectro que da la hoja viva es el de la clorofila sólida, o bien la clorofila está, en la hoja, en disolución en un disolvente de gran poder dispersivo.

Según Iwanoswki (1908), se puede reproducir en lo que tiene de esencial el espectro de las hojas vivas diluyendo

mucho con agua una solución alcohólica de clorofila, y añadiendo a este líquido algunas gotas de una sal neutra cualquiera. Se forma un precipitado finamente granujiento, que permanece mucho tiempo en suspensión; el espectro de esta solución es idéntico al espectro de la hoja viva.

La clorofila existiría en los cloroplastos en forma de granos muy diminutos y, de la combinación del espectro de reflexión de éstos con el espectro de absorción, procedería el cambio de lugar de las bandas.

En las hojas vivas, del mismo modo que en su zumo obtenido mediante una enérgica presión, la clorofila se encuentra en estado coloide. A partir de esto es como debería explicarse la diferencia que presentan entre sí los espectros de absorción de las hojas y de las soluciones alcohólicas dèl pigmento verde (Herlitzka, 1912; Willstätter).

IV

PROPIEDADES FISIOLÓGICAS DE LA CLOROFILA

La clorofila es un *sensibilizador* del protoplasma que impregna. Cuando la asociación íntima de estas dos substancias deja de existir, o cuando el protoplasma muere, la clorofila sola es incapaz de descomponer el gas carbónico.

Edm. Becquerel (1874), en un conocido experimento, puso de manifiesto el papel de sensibilizador que desempeña la clorofila. Si se hace actuar el espectro sobre el colodión, húmedo o seco, preparado con el bromuro o el yoduro de plata, y mezclado con clorofila, se obtiene una imagen espectral más extensa que la que da el colodión no adicionado de materia colorante. El límite de la acción viva, que aparece al cabo de una corta exposición, se extiende desde el ultravioleta hasta más allá de E en el verde; mientras que este límite no tiene más que la extensión ordinaria (desde el ultravioleta hasta entre F y G) cuando no hay clorofila. Una acción más prolongada del espectro, después de revelar y reforzar la imagen, da una impresión más débil, pero muy precisa, desde E hasta más allá de B en el rojo, con una banda activa muy pronunciada entre C y B. La banda característica de absorción de la clorofila tiene los mismos límites

que la banda activa en el colodión sensibilizado mezclado con clorofila.

Es preciso, pues, suponer que la materia colorante adherente al compuesto sensible, aunque esté en capa delgada, forma cuerpo con él, y le transmite las acciones ejercidas por la luz. El compuesto sensible adquiere, por consiguiente, las propiedades absorbentes de la materia en él fijada.

Formación de la clorofila. — Una planta que germina en la obscuridad tiene un color amarillo muy pálido; si se expone a la luz, aun muy mitigada, su tallo no tarda en reverdecer. La clorofila no parece ser el primer producto de la asimilación, como se había creído antes; en efecto, existen plantas que tienen color verde aun en la obscuridad absoluta; tal ocurre con algunas coníferas, con algunos helechos y con muchas algas. La clorofila puede formarse en la obscuridad cuando se halla dificultada la elongación del vegetal. Kraus cita respecto de esto los siguientes hechos. Si se levanta el césped se encuentran brotes jóvenes que se encorvan por dificultar su crecimiento la resistencia que hallan; en cada una de las curvaduras se observa la presencia de un ligero color verde. Se siembra maíz, trigo o cebada en un puñado de algodón introducido en una campana opaca cuyo fondo contiene un poco de agua. A la distancia de pocos centímetros encima de las semillas se fija un tapón; las hojas, que pronto tropiezan con este obstáculo, se doblan en ziszás. Al cabo de algún tiempo, en los ángulos de los dobleces se percibe un tinte marcadamente verde. Belzung ha observado una débil producción de clorofila en el albumen cuando éste germina aisladamente en la obscuridad: entonces el pigmento verde se forma esencialmente a expensas de los granos de fécula transitorios.

Radais cultiva un alga verde *(Chlorella vulgaris)* en cortes de patatas, y observa que la multiplicación celular se efectúa con la misma rapidez a la luz que en la obscuridad. En los dos casos el vegetal tiene color verde, la fase de ahilamiento es más larga en el segundo caso, pero el espectro del pigmento es el mismo en las dos muestras.

Otra alga, el *Nostoc punctiforme*, cultivado en una solución de glucosa en la obscuridad absoluta, adquiere color verde. El espectro de su clorofila es idéntico al de la clorofila normal.

Influencia de la refrangibilidad de los rayos en la génesis de la clorofila.—Las radiaciones rojas desempeñan el papel preponderante en la producción de la clorofila (P. Bert y Reguard). Pero las radiaciones extremas del espectro determinan también la aparición del pigmento verde. Para estudiar la influencia de los rayos ultravioletas en particular, se hace pasar un haz de rayos solares a través de un prisma de cuarzo, que apenas absorbe estos rayos. Las plantas ahiladas, puestas en el trayecto de estos rayos,

adquieren color verde; pero, la intensidad de su coloración es siempre menor que en la parte luminosa. Del mismo modo, las plantas ahiladas, colocadas en el infrarrojo — obtenido haciendo pasar un haz luminoso por un prisma de sal gema,—toman color verde.

La situación del máximo del reverdecimiento puede también determinarse de la siguiente manera. Dangeard (1911) obliga a un alga *(Chlorella)*, cultivada en un medio puramente mineral, a formar una capa delgada y homogénea en las paredes de una cubeta de cultivo de caras paralelas, que tienen una graduación en milímetros para facilitar las mediciones. Se proyecta sobre esta capa un espectro muy puro, procedente de una lámpara de Nernst. Al cabo de ocho días se distingue ya una banda verde de crecimiento que ocupa exactamente el lugar de la banda principal de absorción de la clorofila.

Influencia de la temperatura. — Esta influencia ha sido estudiada por muchos autores, entre los cuales deben citarse Sachs, Wiesner y Heinrich. Se somete la planta ahilada a la acción de una fuente de radiación constante, por ejemplo, una llama, cuidando de que ésta tenga una intensidad óptima. Se observa luego el reverdecimiento manteniendo la planta a una temperatura determinada durante cada experimento. Se encuentra así que la formación de la clorofila principia a cierta temperatura y que cesa a partir de una temperatura más o menos elevada: entre estos dos límites existe la temperatura más favorable para el reverdecimiento:

	Límite inferior	Límite superior	
Cebada. . . .	4°-5°	37°-38°	Wiesner
Maíz	10°	40°	—
Rábanos . . .	10°	45°	—
Guisantes . . .	4°-5°	40°	—
Trigo	8°	35°	Heinrich
Avena	9°	35°	—
Alforjón . . .	9°	40°	—

Influencia de la presencia de materias minerales y orgánicas.—La producción de la clorofila está relacionada con la presencia del oxígeno (Palladin); en el aire enrarecido la formación de este pigmento disminuye mucho (J. Friedel). Ciertas substancias, lo mismo minerales que orgánicas, desempeñan un papel preponderante en su formación. Palladin ha demostrado que las hojas ahiladas, arrancadas de la planta, no reverdecen a la luz más que cuando contienen hidratos de carbono. Dos lotes de hojas ahiladas se mantienen durante dos días en la obscuridad en agua destilada para quitarles sus hidratos de carbono. Uno de los lotes se expone nuevamente a la luz encima de agua destilada, el otro en soluciones que

contienen materias azucaradas. Las hojas del primer lote no se vuelven verdes; las del segundo reverdecen en contacto con la sacarosa, la glucosa y la levulosa, y lentamente en contacto con la galactosa.

Para que aparezca el pigmento verde es necesario que las hojas no estén inmergidas: la formación del pigmento de la clorofila es, pues, correlativo de un fenómeno de oxidación.

Artari ha demostrado que las conclusiones formuladas por Palladin, tales como acabamos de enunciarlas, no son absolutamente verdaderas en todos los vegetales, especialmente en las algas: sería necesario poner a disposición de cada especie vegetal, substancias especiales para determinar su enverdecimiento.

La presencia del fósforo es considerada por muchos experimentadores como indispensable para la génesis de la clorofila; parece que el hierro está en el mismo caso, si bien que ningún autor ha señalado la presencia de este metal en las cenizas de la clorofila o en las de sus derivados. En cuanto al magnesio, hemos visto ya antes su papel en la fotosíntesis.

V

CAROTINA

Es probable que existan muchas carotinas; no hablaremos aquí más que de la materia colorante roja de la zanahoria, que ha sido hallada en todas las hojas verdes mezclada con una materia colorante amarilla, la *xantofila*. La carotina parece idéntica a las materias colorantes designadas por muchos autores con los nombres de *eritrofila* y *crisofila*.

Según Willstätter y Escher (1910), la materia colorante roja del tomate *(licopina)* sería isómera de la carotina: sus espectros de absorción serían diferentes.

La carotina se halla en las hojas junto con la clorofila. Arnaud (1885), a quien se debe un estudio muy completo de este pigmento, la extrae de las hojas de espinaca. Se desecan primero éstas en el vacío, se reducen a polvo y se lavan con petróleo ligero mediante sucesivas maceraciones en frío. En estas condiciones, las materias colorantes roja y amarilla (xantofila) son las primeras que se disuelven, y la clorofila queda insoluble mientras tanto no se prolonguen demasiado estas maceraciones.

Se destila el petróleo. El residuo es un magma céreo, mezclado con pequeños cristales brillantes, de aspecto metálico, que se aíslan por medio de un tratamiento con éter, que disuelve las materias

céreas. Se disuelven los cristales en bencina y se purifican por repetidas cristalizaciones en este disolvente, obteniéndose así cristales brillantes, rómbicos, de lustre metálico, dicroicos, muy solubles en el cloroformo y el sulfuro de carbono. La primera solución es rojo-anaranjada y la segunda de color rojo de sangre.

Husemann había descrito antes con el nombre de *carotina* una materia colorante, extraída de la zanahoria, a la cual había atribuído la fórmula $C^{18}H^{24}O$. Arnaud ha demostrado la identidad de la carotina de la zanahoria con la que él ha extraído de las hojas de espinaca. Este autor asigna a este pigmento la fórmula $C^{26}H^{38}$. La carotina acompaña a la clorofila en todos los vegetales y en muchos frutos.

Arnaud ha propuesto determinar cuantitativamente la carotina por vía colorimétrica: ha podido demostrar así que este hidrocarburo coloreado se encuentra en todos los vegetales en proporciones no despreciables (a menudo una milésima del peso seco), pero que esta proporción varía con las plantas y con su edad.

La carotina es muy oxidable; puede absorber 36 por 100 de su peso de oxígeno. Willstätter y Mieg (1907) atribuyen a la carotina la fórmula $C^{40}H^{56}$.

En la hoja, la carotina permanece inalterada. Dada su extremada alterabilidad, es probable que experimente alternativas de oxidación y de reducción, y que su proporción siga poco más o menos invariable en un tiempo limitado.

Del mismo modo que la clorofila, la carotina tiende a desaparecer en la obscuridad. Según Kohl (1902), su función más importante consiste en asimilar el gas carbónico al lado de la clorofila. Poseería, además, la facultad de absorber calor. Según Went, la carotina preservaría las enzimas de la hoja de la acción destructora de los rayos solares.

Una solución alcohólica de carotina da las tres bandas de absorción siguientes (Tschirch):

I.	λ 468	a	λ	585
II.	— 438	—		455
III.	— 418	—		430

Según Dhéré y Ryncki (1913), los *pigmentos carotinoides* (carotina y xantofila) presentan una transparencia relativa considerable respecto de todas las radiaciones ultravioletas hasta las cercanías de λ 225.

G. Ville (1889) ha hecho una aplicación interesante de los trabajos de Arnaud. Ha tratado de definir la relación que existe entre la intensidad de la coloración de las hojas, es decir, su riqueza en clorofila y carotina, y la riqueza del suelo en elementos de fertilidad. Para ello, siguiendo las indicaciones de Arnaud, lava primero las hojas con petróleo ligero que disuelve la carotina, y luego con alcohol absoluto que disuelve la clorofila. Se toma como tipo de coloración la que corresponde a las hojas de plantas que han recibido

cierta dosis de abono completo, y se compara con el colorímetro esta coloración con la que dan las hojas de plantas que han recibido un abono completo, pero sin nitrógeno, o sin fosfatos, o sin potasa, etc.

La conclusión a que llega G. Ville es la siguiente: la coloración cambia según las condiciones en que la planta ha vegetado, y las disoluciones de carotina presentan variaciones de intensidad correspondientes a las de la clorofila.

Citaremos sólo la determinación de la carotina (en miligramos) efectuada en 100 gr. de hojas secas de trigo:

Abono completo intensivo	195
— sin nitrógeno.	74
— sin fosfatos	97
— sin potasa.	104
— sin cal	114
Tierra sin ningún abono	66

Según esto, en un abono la supresión del nitrógeno es la que más influye en la coloración de las hojas.

VI

XANTOFILA

Este pigmento, probablemente un óxido de la carotina $C^{40}H^{56}O^{2}$, acompaña siempre a la clorofila y produce el color amarillo de las hojas en otoño. Es capaz, como la carotina, de absorber oxígeno. Según Schunck, el espectro de absorción de la xantofila tiene dos bandas, una cerca de la raya F y otra entre F y G.

La *etiolina*, materia colorante amarilla de las hojas ahiladas, parece idéntica a la xantofila. La carotina y la xantofila a menudo son designadas con el nombre de *pigmentos carotinoides*.

VII

ANTOCIANAS

Se da el nombre de *antocianas* o *antocianinas* a las materias colorantes azules, violetas o rojas que se hallan en las flores, en muchos frutos y en numerosas hojas. Estas materias, solubles en el agua y en el alcohol diluído, insolubles en los disolventes orgánicos, son glucósidos no nitrogenados, que tienen espectros de absorción característicos.

Según Overton (1899), la aparición del color rojo parece proceder de un aumento de la cantidad de los azúcares contenidos en los tejidos vegetales. Combes (1909) ha comprobado, en efecto, que la

producción de antociana corresponde realmente a una acumulación de azúcares y de glucósidos y a una disminución en la proporción de las dextrinas.

La formación del pigmento es favorecida por la acción de la luz y por el contacto de los tejidos con una solución de sacarosa. Así es que la disminución de la temperatura, que provoca la transformación de la fécula en azúcar, desempeña un papel importante en el enrojecimiento de las hojas en otoño. Según la mayoría de los autores, este enrojecimiento sería correlativo de la presencia del oxígeno, así como del aumento de la intensidad de los fenómenos respiratorios. Sin embargo, Combes (1913) ha demostrado sintéticamente que la antociana de las hojas rojas se origina cuando el compuesto correspondiente contenido en las hojas verdes es sometido a acciones reductoras. Recíprocamente, el mismo autor ha señalado el hecho de que el pigmento amarillo producido por las hojas verdes de viña virgen, durante el período activo de la vegetación, puede ser obtenido experimentalmente, fuera del organismo, por oxidación del pigmento rojo de las hojas de otoño.

En un trabajo reciente, que no es más que el principio de una serie de investigaciones detenidas sobre las antocianas, Willstätter y Everest (1913), han estudiado especialmente la materia colorante azul del aciano, que puede extraerse de los pétalos desecados en frío por medio del agua sola o del agua cargada de nitrato sódico, de la cual se precipita nuevamente por adición de alcohol. Existe, en principio, un gran número de antocianas.

La combinación clorhídrica de la materia colorante azul es cristalizable; corresponde a la fórmula $C^{28}H^{33}O^{17}Cl + 2\,H^{2}O$ *(cloruro de cianina)*. Tratada por los ácidos, esta substancia se desdobla en 2 moléculas de *cloruro de cianidina* $C^{16}H^{13}O^{7}Cl$, cuerpo cristalizable, y 2 moléculas de glucosa.

Los autores proponen llamar a estos glucósidos: *cianinas* o *antocianinas*, y al producto de su desdoblamiento: *cianidinas* o *antocianidinas*. Las antocianinas dan una reacción muy interesante que permite distinguir la substancia glucósida inicial de sus componentes, que se forman con separación de la glucosa. Esta reacción se funda en la repartición de las antocianinas y las antocianidinas entre el agua (ligeramente acidulada) y el alcohol amílico: las primeras quedan en la capa acuosa, las segundas pasan cuantitativamente al alcohol amílico.

Las antocianas pueden existir en una modificación isómera incolora.

Junto con antocianas, algunas flores contienen materias colorantes amarillas, solubles en el agua o en el alcohol diluído (crisina, luteolina, cuercitina, etc.), que se relacionan, por su constitución, con la fenopirona o *cromona*. Estas substancias amarillas reciben el nombre de *antoxantinas*.

CAPÍTULO VII

GERMINACIÓN

De la semilla en general; estructura y composición. — Influencia de los agentes físicos exteriores en la germinación.—Agua contenida en las semillas, higrometricidad de las semillas. — Longevidad de las semillas. — Pérdida del poder germinativo.—Hinchazón de la semilla por el agua.—Influencia del oxígeno y de la temperatura en la germinación.—Modificaciones que experimenta el contenido de la semilla durante la germinación. — Modificaciones de las materias grasas, de las materias amiláceas y de las materias nitrogenadas. — Azufre y fósforo durante la germinación.—Evolución de la materia mineral durante la germinación. — Ahilamiento.—Evolución de las yemas, de los tubérculos y de los bulbos.

Hemos estudiado, en las páginas anteriores, los fenómenos sintéticos gracias a los cuales el gas carbónico, el agua y el nitrógeno formaban la trama orgánica de los tejidos del vegetal. Tenemos ahora una idea sumaria de la infinita variedad de substancias ternarias y cuaternarias que contiene la planta y de la manera como estas substancias derivan unas de otras.

Una planta fanerógama procede siempre de una semilla: ésta contiene debajo de sus tegumentos substancias nutritivas, tanto orgánicas como minerales, destinadas a la evolución del joven vegetal. Ha llegado, pues, el momento de examinar de qué manera estas substancias nutritivas, con el concurso de ciertos agentes exteriores, se organizan en un vegetal nuevo. En efecto, la semilla no evoluciona, *no germina espontáneamente*.

Definición.—Se puede definir la germinación así: *el conjunto de los fenómenos en virtud de los cuales el embrión, saliendo de su estado de reposo o de vida latente, se transforma en una planta capaz de vivir luego a expensas del medio en que se halla.*

Durante toda la duración del acto germinativo, el peso de la semilla disminuye continuamente. En efecto, una fracción más o menos importante de las reservas contenidas debajo de sus tegumentos desaparece por *combustión,* es decir, por *respiración,* mientras que otra fracción sirve para la organización de la plantita. Así, en la pérdida del peso en bruto de la semilla hay que tener en cuenta: 1.°, el peso del embrión, que aumenta continuamente; 2.°, el peso de las reservas, que se gastan hasta el momento en que las nuevas hojas del vegetal se han desarrollado suficientemente para subvenir, mediante el ejercicio de la función clorofiliana, a las necesidades de la nutrición de la joven planta.

Orden que debe seguirse en el estudio de la germinación. —Estudiaremos la germinación en el siguiente orden:

Estructura de la semilla; composición de la semilla; influencia de los agentes físicos exteriores en la germinación; metamorfosis sucesivas experimentadas por los materiales de reserva de la semilla, materiales de que ella se vale para respirar, por una parte, y para elaborar, por otra, los primeros tejidos del nuevo ser a fin de hacerle apto para vivir desde luego a expensas del medio exterior.

El estudio de la germinación comprende aún dos puntos muy importantes. El primero se refiere a las *modificaciones que sufre la atmósfera en contacto con la semilla que germina:* hay aquí un fenómeno *respiratorio* en que nos ocuparemos al tratar de la respiración. El segundo se refiere al papel que desempeñan las materias minerales fijas durante la germinación.

Por último, terminaremos este estudio de la germinación con el de la *evolución de los tubérculos, de los bulbos y de las yemas* y con algunas palabras sobre el *ahilamiento.*

I

DE LA SEMILLA EN GENERAL

Estructura de la semilla. — Existen semillas, especialmente numerosas en las dicotiledóneas, debajo de cuyos tegumentos se encuentra el embrión simplemente rodeado de dos voluminosos apéndices, *cotiledones* u *hojas seminales,* que forman toda la masa de la semilla. Los dos cotiledones están aplicados uno contra otro por una cara plana, o por una cara más o menos sinuosa. Estas semillas se denominan *exalbuminadas*. Los cotiledones contienen todas las substancias de reserva indispensables para la ulterior evolución del embrión a que están unidos estos cotiledones. Otras semillas, llamadas *albuminadas* o *endospérmeas,* poseen cotiledones más o menos delgados, foliáceos, poco ricos en materias de reserva, arrimados uno a otro, y teniendo en medio de ellos el embrión. El *albumen,* es decir, la substancia nutritiva de reserva, llena entonces generalmente todo el espacio libre situado debajo de los tegumentos de la semilla.

La mayoría de las monocotiledóneas: liliáceas, gramíneas, presentan las semillas albuminadas; entre las dicotiledóneas deben citarse las ranunculáceas, las papaveráceas, las euforbiáceas. En algunas semillas, por lo demás poco numerosas, se encuentra, al lado del embrión, un albumen oleaginoso de escaso desarrollo, contenido en un perispermo grueso y amiláceo.

Composición de la semilla.—El contenido de la semilla es muy variado: hay en ella agua, materias hidrocarbonadas, materias grasas, materias nitrogenadas, materias minerales. Todas las semillas contienen estas cinco clases de substancias.

Pero, lo que constituye la variedad del contenido de la semilla es que las materias hidrocarbonadas, grasas y nitrogenadas, no son siempre idénticamente las mismas, y sus proporciones difieren con la semilla considerada.

Las materias de reserva que se encuentran en los cotiledones son, o bien *figuradas* [granos de aleurona (pág. 254), granos de fécula (pág. 165), celulosa de reserva (página 174), cuerpos grasos más o menos emulsionados (pág. 181)], o bien se hallan en *estado de disolución* (algunos albuminoides y hemicelulosas, sacarosa, ácidos orgánicos parcialmente combinados con bases minerales, tanino, sales minerales, principalmente fosfatos).

Las materias de reserva que se encuentran en el albumen son de la siguiente naturaleza. El albumen puede contener granos de aleurona y materia grasa (ricino, linaza, adormidera); puede contener granos de aleurona y de almidón (gramíneas); celulosa y substancias mucilaginosas de bastante dureza (albumen *córneo* del dátil, de la semilla de café, de las semillas de la vid; albumen mucilaginoso de algunas leguminosas). Estos últimos albúmenes contienen mucha hemicelulosa. Por último, pero más raramente, el albumen es a la vez oleaginoso y amiláceo.

No considerando más que el *conjunto* de las reservas contenidas en las semillas, se pueden clasificar éstas en tres grupos: semillas ricas en nitrógeno (leguminosas) y, por consiguiente, en albuminoides; semillas ricas en materias grasas (papaverácas, crucíferas, algunas euforbiáceas, etc.); semillas ricas en hidratos de carbono (gramíneas). Pero, en todos los casos, repitámoslo, la semilla contiene siempre estas tres clases de elementos orgánicos. Las semillas esencialmente amiláceas (maíz, trigo) contienen una pequeña cantidad de materia grasa; lo mismo ocurre con la mayoría de semillas de las leguminosas.

He aquí una tabla muy sumaria de la composición centesimal *media* de algunas semillas en estado de reposo:

SEMILLAS	AGUA	Substancias nitrogenadas calculadas en ALBUMINOIDES	Materias GRASAS	Substancias HIDROCARBONADAS	CENIZAS
Trigo . . .	11 a 15	9 a 14	1,5 a 2,0	68 a 72	1,5 a 2,6
Centeno. . .	14 a 17	9 a 13	1,3 a 2,0	66 a 74	1,8 a 3,0
Cebada . . .	14 a 15	8 a 14	1,4 a 2,8	62 a 69	2,1 a 3,3
Avena . . .	11 a 15	8 a 13	3,5 a 4,5	50 a 58	2,6 a 4,0
Maíz. . . .	9 a 14	9 a 11	4,0 a 5,0	66 a 73	1,5 a 2,5
Guisante . .	13 a 14	21 a 24	1,5 a 2,3	45 a 54	2,1 a 3,5
Haba . . .	12 a 15	22 a 27	1,5 a 2,0	45 a 52	2,6 a 3,8
Judía . . .	8 a 13	22 a 26	1,5 a 2,0	45 a 55	3,0 a 4,5
Altramuz . .	10 a 14	35 a 40	4,0 a 6,0	25 a 28	2,8 a 4,0
Linaza . . .	9 a 10	21 a 25	34 a 38	20 a 25	4,0 a 5,0
Colza . . .	6 a 8	17 a 20	36 a 45	14 a 22	3,9 a 4,8
Clavel . . .	6 a 9	15 a 20	40 a 48	17 a 20	4,0 a 7,0
Nuez . . .	5 a 8	14 a 16	55 a 63	11 a 15	1,6 a 2,3
Ricino . . .	5 a 6,5	15 a 20	46 a 55	5 a 16	2,9 a 4,0

II

INFLUENCIA DE LOS AGENTES FÍSICOS EXTERIORES EN LA GERMINACIÓN

Elección de las semillas. — Importa mucho que todas las semillas confiadas a un suelo determinado se desarrollen de la misma manera, a fin de que las plantas nacidas de estas semillas lleguen simultáneamente a la madurez.

Para alcanzar este fin se hacen ensayos directos sobre el poder germinativo de las semillas, ya sea sirviéndose del *germinador de Nobbe* (1), ya sea, lo que es mejor, haciendo germinar las semillas en presencia del agua en una estufa de

(1) La determinación del tanto por ciento de las semillas capaces de germinar se efectúa por procedimientos que varían con su naturaleza. En la fabricación de la cerveza esta determinación es de gran importancia y, en general, es muy conveniente que el agricultor sepa cuál es el poder germinativo de las semillas que quiere sembrar para no exponerse a fracasos.—C. B.

temperatura constante. Al cabo de algunos días se cuenta el número de las semillas que han germinado.

A menudo se suelen inmergir las semillas que se quieren sembrar en soluciones salinas destinadas a preservarlas de la invasión de las vegetaciones criptogámicas o de los animales que las comen. Las substancias que se añaden al agua en que se inmergen previamente las semillas son la cal, poco eficaz, y sobre todo el sulfato de cobre en solución del $\frac{1}{100}$ al $\frac{1}{1000}$. En estas proporciones esta última sal no altera las cualidades germinativas.

Una práctica, a veces preconizada para favorecer la germinación, consiste en mezclar las semillas con ciertas materias minerales destinadas a la nutrición de la planta joven desde el momento en que aparece. Las substancias alcalinas en pequeñas proporciones son las que dan mejores resultados. Esta manera de operar recibe el nombre de *pralinage*.

Factores indispensables de la germinación. — Tres condiciones son indispensables para que haya germinación: la presencia de cierta proporción de *agua;* la presencia en la atmósfera de cierta cantidad de *oxígeno;* por último, existe una *temperatura* mínima debajo de la cual la semilla no germina y una *temperatura* máxima por encima de la cual tampoco germina: la temperatura desempeña, pues, un papel importante en la germinación.

Agua contenida en las semillas.—La manera como se comporta la semilla respecto del agua es muy digna de ser estudiada.

Abandonada a sí misma, la semilla que se ha desprendido del fruto maduro se deseca poco a poco. Finalmente contiene todavía una pequeña cantidad de agua, variable con las semillas y también variable con el estado higrométrico del aire. En una atmósfera húmeda la semilla absorbe agua que devuelve poco a poco al medio exterior cuando la atmósfera se deseca: las semillas son, pues, *higroscópicas*.

La riqueza en agua de las semillas en *estado de reposo*

varía entre 5 y 15 por 100 de su peso. Es indispensable que las semillas estén en un sitio seco para que no se pudran por la influencia simultánea de la humedad y de ciertas vegetaciones criptogámicas que se encuentran esparcidas en su superficie.

Una semilla nunca germina espontáneamente: su proporción de agua es normalmente demasiado escasa para ello.

Conservación y abolición del poder germinativo. — Es muy importante formarse una idea exacta de la *naturaleza de esta agua normal* y del papel que desempeña respecto de la conservación de las propiedades germinativas de las semillas.

Muchas semillas pueden germinar sin haber alcanzado su volumen definitivo. Según Mazé, si se quitan de su vaina o de su espiga semillas todavía lechosas de guisante o de maíz y se introducen asépticamente en tubos de ensayo provistos de dos puñados de algodón, el uno humedecido que sirve de apoyo a la semilla, y el otro destinado a interceptar los gérmenes del aire, se observa que el maíz forma, a la temperatura de 30°, una plantita normal al cabo de mayor o menor tiempo. Los guisantes no forman más que plantas raquíticas; a menudo ni siquiera hay germinación. Si, en vez de hacer germinar inmediatamente las semillas, se desecan en contacto con el aire durante uno o dos días a 30° encima de ácido sulfúrico concentrado, el maíz y el guisante se desarrollan normalmente en las condiciones descritas. Algunas semillas que germinan muy mal en el momento de ser cosechadas, pueden germinar rápidamente si se desecan.

Es probable que las semillas maduras, que no pueden germinar inmediatamente después de ser cosechadas y que deben permanecer en reposo durante cierto tiempo antes de adquirir la propiedad de germinar, no experimentan este retardo más que a causa de una insuficiencia de las enzimas que desempeñan tan gran papel en la digestión de las reservas, como veremos más adelante.

Sin embargo, esta pérdida de agua de las semillas no maduras, que les permite adquirir el poder germinativo, va

acompañada de la evaporación de un cuerpo volátil, el *aldehido etílico;* la presencia de este aldehido se opondría, según Mazé (1910), a la evolución del embrión.

El agua que contiene una semilla recolectada desde algún tiempo, constituye lo que podría llamarse agua de *interposición*. Resulta esto de la siguiente observación debida a Maquenne. Este autor ha encontrado que, para las especies fáciles de desecar, como ocurre con las semillas oleaginosas, la pérdida de peso, obtenida exponiendo la semilla a una temperatura de 45° y en un vacío próximo a $\frac{1}{100}$ de milímetro, es sensiblemente la misma que se obtendría exponiendo la semilla en la estufa a 110°. Se deduce de esto que el agua, que se desprende en estos dos casos en la misma cantidad, preexiste en esta forma en la semilla y no resulta de ninguna acción química que afecte a sus principios esenciales.

Esta presencia del agua *normal* en una semilla es probablemente la causa del conocido debilitamiento de sus propiedades germinativas con el tiempo. En efecto, siendo el agua necesaria en abundante proporción para el funcionamiento del organismo vegetal, se concibe que los caracteres exteriores de la vida se atenúen en la semilla que no contenga, en el estado de reposo, más que una cantidad de agua siempre escasa. Maquenne ha insistido mucho en este punto; es que, a pesar de su escasa cantidad de agua, las semillas, cuyas funciones vitales no quedan suspendidas, sino *debilitadas,* continúan gastando lentamente la energía que contienen en reserva para subvenir al trabajo de su evolución ulterior. Esta pérdida de energía es debida a una respiración lenta, provocada por la presencia del oxígeno del aire y por la del aire de interposición. Esta combustión, por débil que sea, es la causa cierta de la abolición del poder germinativo.

Es, pues, probable que las semillas conservarían más tiempo, si no indefinidamente, su facultad de germinar, si, por la acción de un vacío tan perfecto como fuese posible, estuviesen desecadas y substraídas de la acción del oxígeno. En el vacío, la respiración intracelular se detiene, como la respiración normal, según ha demostrado Maquenne: la semilla pasa del estado de *vida retardada* al estado de *vida suspendida*. Así, al cabo de dos años y medio en el vacío, las semillas de chirivía, puestas en condiciones favorables, pudieron germinar en la proporción de 50 por 100, mientras que semillas semejantes, conservadas en un frasco, no dieron un solo caso de germinación al cabo del mismo tiempo.

La vida latente de las semillas es, generalmente, anaerobia y

extremadamente lenta, a veces hasta es una *vida suspendida*. Si se desecan semillas de alfalfa, de mostaza o de trigo en el vacío a 40°, en presencia de barita, luego se ponen en contacto con aire líquido durante tres semanas y después en contacto con hidrógeno líquido durante diez y siete horas, se puede provocar la germinación de estas semillas poniéndolas sobre algodón mojado. La suspensión de la vida ha debido ser evidentemente completa en todo el tiempo que ha durado la desecación y la acción del frío (P. Becquerel, 1909). Los esporos de las mucedíneas se comportan como las semillas.

A. Mayer ha podido mantener durante once años semillas de alfalfa sobre cal viva, y después sobre ácido sulfúrico: al cabo de este tiempo las semillas conservaban su poder germinativo. La sequedad de la atmósfera parece ser, pues, una condición capital para la conservación de las propiedades vitales de la semilla.

Cuando está así privada de agua, la semilla se encuentra en estado de *vida suspendida:* no respira, es decir, no desprende gas carbónico. En estas condiciones resiste a la acción de ciertas influencias exteriores que, en el individuo normal, aniquilarían totalmente sus propiedades germinativas: puede soportar la acción de temperaturas muy bajas (aire líquido), o relativamente elevadas (agua hirviente durante algunos minutos), sin perder sus facultades germinativas, con tal que sus tegumentos permanezcan impermeables. Se puede, también, inmergirla impunemente en ciertos líquidos, como el alcohol absoluto, el éter, el cloroformo.

Esta desecación previa de la semilla, que no le impide conservar intactas sus propiedades de órgano viviente, es comparable con lo que ocurre con ciertas substancias derivadas del organismo. Así, la albúmina de la clara de huevo se coagula a 75° y, en este estado, no puede redisolverse en el agua. Si se deseca a baja temperatura o en el vacío, conserva la propiedad de disolverse en el agua, aun cuando se haya calentado antes a 100°. La mayoría de las diastasas mueren a una temperatura de 70 a 80° cuando están húmedas. Pero, si se desecan a una temperatura baja o en el vacío, pueden soportar estas mismas temperatura de 70 a 80°, sin perder por esto sus propiedades activas.

Permeabilidad de los tegumentos.—Longevidad de las semillas. — Cuando las semillas secas se mantienen durante bastante tiempo en vasijas de vidrio cerradas que contengan, ya sea aire, ya sea gases impropios para la vida (nitrógeno, óxido de carbono, gas carbónico), no modifican la atmósfera que las rodea. Se ha creído que estas semillas no respiraban; sin embargo, pueden conservar sus propiedades germinativas.

Esta falta de cambios gaseosos es debida, según P. Bec-

querel, a que el tegumento desecado de muchas semillas es una barrera infranqueable para los gases *secos;* es, pues, natural admitir que la atmósfera exterior no está en contacto con la parte de la semilla que queda así protegida por el tegumento. Pero, el embrión puede, sin embargo, respirar de una manera imperceptible a expensas del oxígeno incluído en los tejidos de la semilla. Cuando la provisión de este último está gastada, la semilla puede morir, de inanición o de asfixia; y se concibe, de acuerdo por lo demás con la observación, que su poder germinativo decline paulatinamente hasta su completa abolición.

Según Amar, una membrana coloide determinada, *perfectamente desecada*, es impermeable para el gas carbónico cuando éste actúa sobre ella por su superficie interna: el agente de la ósmosis gaseosa es, pues, el agua de impregnación del tejido, es decir, la disolución.

En realidad, el tegumento desecado de las semillas no es impermeable para los gases húmedos; además, este mismo tegumento, impermeable para los gases secos a la temperatura ordinaria, se vuelve permeable a 50°.

Por consiguiente, y esto es muy importante para aclarar la cuestión de su longevidad, si las semillas en un momento dado se encuentran en una atmósfera húmeda, sus tegumentos se vuelven permeables; el oxígeno del aire penetra poco a poco, y se establece una verdadera respiración que, en un espacio de tiempo más o menos largo, es capaz de anular la facultad germinativa.

La *longevidad* de las semillas es un fenómeno que a menudo ha llamado la atención, no sólo de los prácticos, sino también de los fisiólogos. Se han dado a conocer las opiniones más diversas sobre este tema, y hasta se ha pretendido, a consecuencia de observaciones incompletas, que algunas semillas conservaban casi indefinidamente su poder germinativo.

Parece que no ocurre así y, según lo que precede, podemos creer que, en las condiciones habituales en que se conservan, las semillas no guardan intactas sus propiedades germinativas más que durante un tiempo relativamente corto.

Los principales factores que intervienen para acelerar la destrucción de una semilla son múltiples: temperatura, húmedad exterior, permeabilidad de los tegumentos, naturaleza de las reservas de la semilla.

De Candolle (1846), habiendo conservado durante catorce años 368 especies de semillas al abrigo de la luz y de la humedad, observó que solamente diez y siete habían sido capaces de germinar al cabo de este tiempo.

P. Becquerel (1846), en recientes experimentos que aquí sólo podemos resumir, ha hecho investigaciones en 550 especies procedentes del Museo, y cuya edad era perfectamente conocida. Estas semillas comprendían treinta familias: su edad variaba entre veinticinco y ciento treinta y cinco años. Lavadas con agua esterilizada y en parte descortezadas cuando el tegumento era demasiado grueso, fueron puestas sobre algodón hidrófilo humedecido y expuestas a una temperatura de 28°.

De 90 especies de leguminosas germinaron diez y ocho (las más viejas de estas semillas tenían setenta y uno, ochenta y cuatro y ochenta y siete años); 3 especies de *Nelumbo* (cuarenta y ocho y cincuenta y seis años); una sola malvácea entre 15 (sesenta y cuatro años); una sola labiada (setenta y siete años). Ninguna semilla de las siguientes familias germinó: gramíneas, juncáceas, liliáceas, urticáceas, poligonáceas y crucíferas.

Se ha dicho que algunas semillas podrían permanecer muchos años en el suelo sin germinar, y que a consecuencia de la desecación de un estanque, por ejemplo, o, recíprocamente, de haber sido rellenado un estanque desecado, plantas, cuya presencia no había sido observada desde tiempo, podían nuevamente aparecer.

P. Becquerel hace notar que las semillas pueden ser llevadas por el viento, los pájaros, las mismas aguas y, por lo que toca a la longevidad de las especies, solamente las que están protegidas por un tegumento joven y contienen reservas poco oxidables pueden conservar sus facultades germinativas durante más de ochenta años.

La pretendida germinación de semillas que habrían permanecido más de cuatro mil años en las tumbas egipcias es, pues, una leyenda que carece de fundamento.

La abolición del poder germinativo de las semillas que tienen algunos años de existencia es debida también, en gran parte a lo

menos, a la *acidificación* que han experimentado, por la acción del oxígeno del aire, las substancias grasas que contienen (Ladureau).

En resumen, la pérdida del poder germinativo es un ***fenómeno de oxidación.***

Influencia del estado higrométrico del aire en la conservación de las semillas.—Una de las causas de la destrucción de la facultad germinativa de las semillas debe buscarse en la presencia del agua interpuesta en sus tejidos. Hemos visto que las semillas *absolutamente secas* conservarían probablemente sus facultades germinativas durante muy largo tiempo. Era, pues, de presumir que las variaciones del estado higrométrico del aire llevarían consigo variaciones correspondientes en la cantidad de humedad de las semillas, y que las que hubiesen permanecido en una atmósfera más cargada que otra de humedad conservarían menos tiempo sus facultades germinativas. Esto es lo que ha comprobado Demoussy (1907) poniendo cierto número de semillas en atmósferas de temperatura constante (25°), en las cuales se mantenía constante el estado higrométrico por medio de soluciones de potasa más o menos concentradas. Este estado higrométrico, perfectamente conocido, tenía los siguientes valores: aire saturado a 25° (tensión, 23,6 mm.), saturaciones iguales a 0,8, a 0,7, a 0,5, a 0,3, a 0,15; por último, aire completamente seco a causa de la presencia de potasa cáustica sólida. Esta desecación parcial o total del aire obtenida por medio de la potasa tiene la ventaja de substraer las semillas a la acción tóxica del gas carbónico que emiten. Se determinó en estas condiciones el poder germinativo de las semillas cada mes durante un año. He aquí los resultados. En el aire saturado de humedad, la mayor parte de las semillas no resisten apenas al cabo de un mes; al terminar el segundo mes, las semillas de las crucíferas todavía resisten; pero, al cabo del tercero, todas las semillas han muerto. En el aire de 0,8, las semillas resisten bastante bien el primer mes; las crucíferas son aún las más resistentes; pero, al cabo de seis meses, todas las semillas han muerto. Los demás experimentos hablan en el mismo sentido: cuanto mayor es la humedad, más pronto desaparece el poder germinativo. En el aire seco, la resistencia de la mayoría de las semillas es mucho mayor, si bien que, en algunas especies, esta resistencia baja, a pesar de todo, en grandes proporciones (por ejemplo, en la amapola y la digital.)

Necesidad de la presencia del agua para la germinación.—La presencia del agua es indispensable para la germinación. Si se siembran semillas en un suelo demasiado seco, no germinan o, a lo menos, germinan muy irregularmente.

¿Perjudica a la vegetación un exceso de agua? Cuando el

suelo está inundado, las semillas se pudren y no germinan. Pero, generalmente, lo que dificulta la germinación no es el exceso de agua, como en este caso, sino la ausencia de oxígeno, otro factor indispensable de la germinación. De todos modos, el exceso de agua, aun cuando esté aireada, no es una buena condición para la germinación normal, porque, como veremos más adelante, las reservas de la semilla se solubilizan paulatinamente y pueden pasar en parte al exterior a causa de fenómenos de exósmosis; quedan, pues, perdidas para el vegetal.

Sin embargo, la semilla puede germinar, aun en el seno del agua pura, si ésta es aireada. Esto es lo que demuestra el siguiente experimento, indicado por Dehérain.

En una serie de tubos en U que comunican entre sí se ponen semillas (por ejemplo, lentejas), y se hace pasar a través de esta serie de tubos una corriente de agua muy lenta. Las semillas del primer tubo, el más próximo a la entrada del agua, germinan fácilmente; las del segundo, con algo menos de facilidad; las de los últimos tubos, difícilmente o no germinan. Las semillas del primer tubo adelantan a las otras porque han encontrado en el agua oxígeno disuelto; las de los demás tubos encuentran tanto menos oxígeno cuanto más lejos estan situados éstos de la entrada del agua. Si falta el oxígeno, la germinación no se efectúa.

Se pueden también hacer germinar semillas en agua tibia constantemente atravesada por una corriente de aire.

El exceso de agua no daña, pues, a la germinación, con las salvedades que hemos expuesto.

La lucha por el agua entre el suelo y la semilla.—Se deben a Müntz (1910) las siguientes observaciones relativas a la evolución germinativa en los medios naturales.

Cierta masa de agua puede encontrarse en presencia de una semilla y, sin embargo, ésta no germinará forzosamente. Es necesario que esta agua esté *disponible*. En efecto, cada especie de tierra retiene con energía una determinada proporción de agua, variable con la naturaleza de la tierra considerada; esta fijación va acompañada de un desprendimiento de calor que difiere de una tierra a otra (véase la *Química del suelo* de esta misma Biblioteca agrícola, pág. 176). Cuando esta *afinidad específica* queda satisfecha, una

nueva adición de agua no determiaa ya ningún desprendimiento térmico. Pasado el límite de saturación, el agua está libre y se encuentra a disposición de los seres vivos implantados en la tierra. Es, pues, indispensable que haya exceso de agua respecto de la cantidad de este líquido que corresponde a la afinidad específica. Es casi exclusivamente en la arcilla y en el humus, contenidos en la tierra, donde reside esta afinidad. Como la proporción de estas dos substancias varía entre límites muy extensos, resulta que el agua así fijada en la tierra varía de 1 a 20 por 100.

La semilla, en estado de reposo, no contiene, según hemos visto, más que una cantidad de agua del todo insuficiente para su germinación. Debe tomar este líquido al medio en que se halla: de donde deriva una lucha entre la semilla y las partículas que la circundan.

Supongamos, por ejemplo, una tierra ligera, con 2 por 100 de agua cuando está en su límite de saturación. Sembremos en ella semillas de trigo con 15 por 100 de agua normal. No se efectuará ningún cambio de líquido entre la tierra y la semilla, exigiendo ésta aproximadamente 36 por 100 de agua para germinar. Pero, cuando esta tierra contenga 3 por 100 de agua, habrá un exceso de líquido respecto de la cantidad que corresponde a su afinidad específica: así, la semilla podrá germinar. Supongamos, ahora, una tierra rica en humus, cuya afinidad específica está satisfecha con 18 por 100 de agua: no cederá líquido a una semilla de trigo introducida en su masa. Pero, con 19 por 100 de agua, el exceso de este líquido asegurará la germinación.

Inversamente, si una tierra contiene una proporción de agua inferior a la que caracteriza su afinidad específica, tomará agua de la semilla; ésta se deshidratará.

No es, pues, la proporción de agua absoluta contenida en la tierra la que regula la aparición del fenómeno germinativo, sino únicamente la proporción de agua disponible.

Hinchazón de la semilla en el agua.—Cuando se inmergen semillas en agua, o cuando éstas están simplemente en el seno de una tierra suficientemente húmeda, las semillas aumentan de volumen. El peso del agua así absorbida varía con cada especie de semilla, y se llama *poder absorbente* de la semilla respecto del agua la cantidad de este líquido que pueden absorber 100 gr. de semillas secas. Las semillas ricas en fécula tienen un poder absorbente relativamente pequeño; las ricas en granos de aleurona tienen un poder mucho más elevado. Referido a 100 partes de semilla seca, el poder absorbente es de 125 para el altramuz, de 118 para las habas, de

108 para las judías, de 47 para el trigo, de 38 para el maíz, de 8 para la semilla de *Canna*.

Esta *saturación* no es indispensable para la germinación; una cantidad mucho menor de agua, con tal que no baje mucho de cierto límite, puede muy bien bastar para el desarrollo germinativo. Este mínimo es, por ejemplo para las habas, 74: o sea 62 por 100 de su poder absorbente. El agua penetra con tanta mayor rapidez cuanto más elevada sea su temperatura; pero, la proporción de agua finalmente absorbida es la misma que a temperatura baja.

La rapidez con que el agua es absorbida es una función exponencial de la temperatura; y la tensión del vapor de agua es también aproximadamente una función exponencial de esta semilla (Brown y Worley, 1912).

El agua penetra más lentamente en la semilla si la presión exterior aumenta.

Es necesario también observar que las semillas pueden soportar, sin dejar ulteriormente de germinar, el contacto con soluciones minerales que tengan una concentración muy superior a la que podrían tolerar las plantas adultas.

Significación de la hinchazón.—Cuando las semillas están amontonadas en un vaso de vidrio de paredes delgadas lleno de agua y han absorbido cierta cantidad de este líquido, se produce en las paredes de este vaso una compresión local que puede ocasionar su rotura.

La presión que el agua ejerce sobre las paredes celulares de la semilla es considerable. Maquenne (1896) midió el valor de estas *presiones osmóticas* iniciales. Estas son el punto de partida de la evolución de la joven planta, y su intensidad está en relación con la de los fenómenos de hidrolisis destinados a hacer pasar paulatinamente los materiales de la semilla al estado soluble por la acción de las enzimas. La presión osmótica ha sido determinada midiendo el punto de solidificación de los jugos extraídos por presión de las semillas examinadas y empleando la fórmula que relaciona el punto de solidificación con la presión osmótica. Se encuentra así que la presión osmótica, en las semillas de las legumi-

nosas, después de diez días de germinación, llega de 6 a 10 atmósferas.

Gréhant, empleando un método diferente, había encontrado anteriormente 15 atmósferas para las semillas de altramuz y 8 para las de lenteja.

La hinchazón de las semillas por el agua corresponde, pues, a un fenómeno que es a la vez químico y físico.

Hay semillas que, hinchadas primero por el agua, pueden luego ser desecadas sin que resulte ningún inconveniente para su germinación ulterior. Pero, cuando una semilla está hinchada, resiste mucho menos que una semilla seca las temperaturas extremas. A pocos grados bajo 0° una semilla turgescente muere; lo mismo ocurre si se calienta a unos 70 u 80°. Por el contrario, una semilla seca puede soportar la temperatura de 100° algunos instantes sin que queden abolidas sus facultades germinativas.

Según Effront, las semillas de la *Ceratonia siliqua* a menudo son muy rebeldes a la germinación. Para hacerlas germinar, es necesario hacerlas hervir previamente durante dos o tres horas con agua o, mejor aún, una hora a la presión de 2 atmósferas. A pesar de este tratamiento, las semillas conservan sus enzimas todavía intactas.

Influencia de ciertas substancias disueltas en la germinación.—¿Es necesario, o a lo menos ventajoso, que las semillas germinen en el seno de un líquido que contenga en disolución substancias minerales? Los resultados obtenidos en este punto son contradictorios. No se trata aquí, entiéndase bien, de discutir la cuestión de la utilidad de la materia mineral para la planta; esto está fuera de duda, y hablaremos de ello más adelante. Se trata simplemente de saber si un determinado elemento salino *favorece* con su presencia las primeras manifestaciones de la vida. Se sabe que indicios de cobre en agua destilada pueden dificultar la germinación; de manera que se puede preguntar si, en los experimentos en que se ha reconocido que ciertas semillas germinaban difícilmente en agua destilada sola, podría darse la culpa a la presencia de indicios de cobre en esta agua.

En una serie de experimentos ya antiguos, Bœhm (1875) demostró que las judías germinan mal en el agua destilada y mueren al cabo de poco tiempo, mientras que, en el agua ordinaria, la germinación se efectúa normalmente. Este autor deduce de ello que la *cal* que

siempre contiene el agua ordinaria desempeña un papel importante en este caso. Esta base no puede ser reemplazada por ninguna otra.

De todas maneras, Dehérain ha demostrado que, si el trigo, por ejemplo, germina mal en el agua destilada, basta elevar un poco la temperatura de ésta (30 a 35°) para que la germinación se realice satisfactoriamente: la presencia de la cal no parece, pues, indispensable. Dehérain y Demoussy han dado otra explicación, que expondremos más adelante, de la influencia de la cal en el experimento de Bœhm.

Esta pretendida necesidad de las sales cálcicas, y su influencia especialmente favorable en el desarrollo de la raíz, podrían explicarse, según algunos, de la siguiente manera. Las sales cálcicas se encuentran siempre en mínima cantidad en las cenizas de la mayor parte de las semillas: parece que la adición de sales diferentes de las que existen normalmente en las semillas es lo que más influye en el desarrollo de la plantita. La adición de sales potásicas, como el fosfato, a un agua en que germinan semillas, no parece favorable, porque las cenizas de las semillas son siempre muy ricas en fosfatos y en potasa. Esta conclusión debe mantenerse en suspenso en absoluto; pudiendo haber sido empleadas algunas sales demasiado concentradas, volveremos a tratar de este asunto más adelante. Solamente se puede deducir que, si la cal no es absolutamente indispensable a la semilla que germina, ejerce sin embargo una marcada acción en el desarrollo de la plantita.

Según von Lieberberg (1882), la presencia de la cal sería indispensable para la germinación de algunas semillas y no para otras: existirían semillas de estructura incompleta que no contendrían una cantidad de cal suficiente para la utilización de sus matérias de reserva.

Sin embargo, los cotiledones de una planta, muerta por falta de cal, contienen a menudo todavía notables cantidades de esta base: se trata aquí, pues, de una dificultad especial de asimilación de este elemento por la joven plantita.

La cal parece desempeñar, en ciertos casos, un papel antitóxico, según resulta de los siguientes hechos (Sta. Robert, 1913). Si se transportan a un medio líquido, que contenga a la vez sales magnésicas, potásicas y amónicas, plantas jóvenes que hayan principiado a germinar en agua destilada, se observa que los vegetales cesan de desarrollarse, aun cuando la concentración salina sea la de los líquidos habitualmente usados. Pero, si se añade a este medio salino una conveniente cantidad de una sal cálcica, se obtiene un desarrollo completo del vegetal. La primera solución, exenta de cal, no es solamente incompleta en concepto nutritivo, sino que, además, es tóxica respecto del vegetal, que se desarrolla peor que en el agua destilada. Una adición de calcio corrige, pues, la acción perjudicial de los demás elementos.

Esta influencia favorable de la cal había sido ya notada por Loew y observada diversas veces por Demoussy.

A los datos precedentes añadamos los siguientes complementos. La mayoría de las semillas son muertas por las soluciones ácidas, aun muy diluídas. Muchas soluciones salinas son favorables a la germinación, con la condición de no pasar, en general, de una concentración de 2 a 4 milésimas. La mayoría de las sales empleadas como abonos: superfosfatos, sales potásicas, nitratos, sales amónicas, muy útiles cuando la joven plantita ha principiado su evolución, pueden ser nocivas si su concentración es demasiado grande en un momento dado. Esto es lo que se observa en la época en que se aplican estas materias. Puede ocurrir, en efecto, si no llueve o si la mezcla del abono con la tierra ha sido mal hecha, que las semillas enterradas en el suelo se encuentren con soluciones de concentración salina demasiado fuerte, capaces de matarlas.

Se ha considerado la influencia bienhechora de ciertas soluciones alcalinas muy diluídas en la germinación como una consecuencia de la neutralización de los ácidos producidos por la joven planta.

Todos los antisépticos matan a las semillas, a lo menos con un contacto prolongado. Sin embargo, se pueden esterilizar las semillas empleando el cloruro mercúrico al $\frac{1}{1000}$, con la condición de no dejarlas en el líquido más que algunos minutos y de inmergirlas en seguida en agua destilada esterilizada. El tegumento exterior de la semilla debe estar intacto.

Según Coupin, algunas semillas de plantas terrestres soportarían la acción de soluciones de sal común al 1,5 por 100. Esta cifra podría elevarse de 3 a 4 por 100 en las plantas marítimas de los géneros *Atriplex* y *Beta*.

La influencia de las sales de *cobre* en la germinación merece ser especialmente mencionada. Hemos visto anteriormente que con frecuencia se usa el sulfato de cobre para preservar las semillas de la acción de ciertas vegetaciones criptogámicas. Sin embargo, Dehérain y Demoussy, lo mismo que Devaux y Coupin, han demostrado que las sales de cobre son extremadamente tóxicas para las plantas superiores y que pueden dificultar la germinación aun en proporciones infinitamente pequeñas, como las que puede contener el agua destilada que ha estado en contacto con vasijas de cobre.

De todos modos, si la semilla tratada con el sulfato de cobre está enterrada en un suelo aunque sea poco calcáreo, el metal pasará al estado insoluble. Además, aun cuando el suelo no contenga nada de calcáreo, basta, para que la germinación se efectúe, que la solución cúprica que impregna la semilla sea eliminada de manera que no se halle cerca de las raíces o de los órganos en evolución.

En contacto con el tegumento de la semilla, si éste es impermeable, la sal de cobre permanece insoluble o inerte (Demoussy).

Bœhm, para demostrar que la cal era indispensable a la germi-

nación, ponía semillas en agua destilada contenida en un vaso de *cobre plateado*. No se efectuaba la germinación, pero era ésta posible si se añadía un indicio de carbonato cálcico al líquido; de donde se deduce el papel útil que desempeña la cal. Sin embargo, el cloruro cálcico, aun en solución extremadamente diluída, no da ningún resultado. Es posible que el vaso de cobre plateado tuviese algún rasguño, quedando así el cobre al descubierto, y que el carbonato cálcico no interviniese más que para neutralizar los efectos funestos de este metal por simple precipitación química (Dehérain y Demoussy).

Esterilización de las semillas.—Frecuentemente hay ocasión de operar con semillas esterilizadas, es decir, privadas de los gérmenes que abundan en su superficie. He aquí cómo conviene proceder para alcanzar un buen resultado.

Se cosechan las semillas con cuidado, se conservan en lugar seco al abrigo del polvo, y se les quitan las partes rugosas por medio de un bisturí pasado por la llama. En seguida se lavan con alcohol absoluto y se agitan, durante diez minutos, con arena de Fontainebleau muy fina y un poco de agua esterilizada. Después de esta operación, cuyo objeto es quitar los gérmenes adherentes, se lavan las semillas con agua esterilizada y se inmergen quince minutos en una solución de cloruro mercúrico al milésimo. Luego se lavan cuatro o cinco veces con agua esterilizada (Mazé y Périer, 1904).

Influencia del oxígeno en la germinación. — Del mismo modo que el agua, la presencia de este gas es un factor indispensable para la germinación. Las semillas hinchadas en el agua, y luego puestas en atmósferas variadas, no muestran sus raicillas más que si estas atmósferas contienen oxígeno. Además, es preciso que el gas oxígeno esté en *contacto directo* con la semilla. En efecto, la mayor parte de las veces, las semillas inmergidas a cierta profundidad en el agua, aun aireada, no germinan o germinan mal, aun cuando estas semillas hayan sido esterilizadas y no estén invadidas por vegetaciones criptogámicas. En este último caso, la semilla presenta fenómenos especiales de que trataremos en otro lugar.

Si el oxígeno está a una presión mayor que la que tiene en el aire normal, desde el principio la germinación se acelera.

Pero, más allá de cierta presión, variable por lo demás con la naturaleza de las semillas, el oxígeno se comporta como un verdadero veneno, y la semilla no puede germinar.

A veces, después de haberse iniciado normalmente, la germinación se detiene de un modo brusco.

La cantidad de gas carbónico producido en un intervalo de tiempo dado por cierto peso de semillas puede servir de medida de la actividad de la germinación. Cuando la presión del oxígeno aumenta, el desprendimiento del gas carbónico por de pronto crece, pero en proporciones diferentes con las diversas especies de semillas; si la presión del oxígeno sigue creciendo, el desprendimiento disminuye, y luego cesa: la semilla ha muerto.

El nitrógeno y el hidrógeno no parecen ejercer ninguna acción perjudicial en la germinación. No ocurre lo mismo con el gas carbónico. De Saussure ha demostrado que una pequeña cantidad de este gas ($^1/_{12}$, por ejemplo) favorece al sol la función clorofiliana, pero ejerce una acción nociva y tóxica sobre la semilla que germina, tanto a la luz del sol, como en la obscuridad.

Una semilla que germina normalmente desprende gas carbónico. Si la atmósfera en que se efectúa esta germinación es confinada, la semilla no tarda en morir. Mangin ha observado que la acumulación del gas carbónico y, por consiguiente, el empobrecimiento en oxígeno, provocan, siendo por lo demás iguales las otras circunstancias, una disminución de la actividad respiratoria. Si se estudia la relación existente entre el oxígeno absorbido y el ácido carbónico emitido, se nota que la permanencia de la semilla en una atmósfera viciada disminuye en una proporción considerable, a veces de la mitad, la cantidad de oxígeno empleado en reacciones distintas de la formación del gas carbónico; la nutrición de las plantas queda entonces profundamente perturbada.

Gases desprendidos normalmente durante la germinación.—El único gas que se desprende de la semilla durante una germinación normal es el gas carbónico. Tal es la opinión de la inmensa mayoría de los fisiólogos. Schlœsing hijo ha demostrado, empleando métodos gasométricos muy exactos, que, en una campana en la cual germinaban trigo o altramuz, el desprendimiento de nitrógeno era nulo. Para que un experimento así sea válido, es necesario introducir, a medida que se convierte en gas carbónico, oxígeno puro en la campana en que se hace el experimento, de manera que se mantenga en ella una atmósfera con la proporción normal de oxígeno.

Germinación en ausencia del oxígeno. — Un curioso experimento debido a Takahashi (1905) parece demostrar que las semillas de arroz pueden germinar sin el concurso del oxígeno; la plúmula se alarga y puede adquirir una longitud de 3 cm. La pequeña cantidad de aire contenida dentro del tegumento de la semilla, ¿bastaría entonces para provocar la germinación?

Influencia de la temperatura en la germinación.—La influencia del factor *temperatura* ha sido estudiada de muy diferentes maneras. Se puede buscar a qué temperatura, respecto de una especie determinada, aparece más pronto la radícula; se puede también medir la cantidad de gas carbónico producido en un tiempo dado y a una determinada temperatura.

Será preciso, naturalmente, mantener las semillas y las plantitas de ellas nacidas al abrigo de la luz para impedir la aparición de la clorofila.

Para cada semilla existe una temperatura *óptima* para su germinación; existen también una temperatura mínima y una temperatura máxima, por debajo y por encima de las cuales ninguna germinación es posible. En general, a temperatura constante, la respiración, es decir, el desprendimiento de gas carbónico, aumenta rápidamente al principio de la germinación; luego se mantiene aproximadamente estacionario durante algunos días, y después disminuye gradualmente.

Si se compara la cantidad de ácido carbónico emitido durante la germinación, por una parte en el aire puro y por otra en el oxígeno puro, se encuentran cifras muy próximas para una misma temperatura: lo que demuestra que la dilución del oxígeno no ejerce influencia. Por el contrario, las variaciones de la temperatura dan grandes diferencias en el desprendimiento del gas carbónico. He aquí, por ejemplo, los datos que se encuentran para las judías, durante una hora de observación:

Temperaturas de observación	CO^2 producido en: Aire puro. Miligramos	Oxígeno puro. Miligramos
2º	10,5	10,5
6º	21,2	21,2
18º	32,2	31,6
20º	39,6	39,6 (Rischawi)

A veces, después de haberse iniciado normalmente, la germinación se detiene de un modo brusco.

La cantidad de gas carbónico producido en un intervalo de tiempo dado por cierto peso de semillas puede servir de medida de la actividad de la germinación. Cuando la presión del oxígeno aumenta, el desprendimiento del gas carbónico por de pronto crece, pero en proporciones diferentes con las diversas especies de semillas; si la presión del oxígeno sigue creciendo, el desprendimiento disminuye, y luego cesa: la semilla ha muerto.

El nitrógeno y el hidrógeno no parecen ejercer ninguna acción perjudicial en la germinación. No ocurre lo mismo con el gas carbónico. De Saussure ha demostrado que una pequeña cantidad de este gas ($^1/_{12}$, por ejemplo) favorece al sol la función clorofiliana, pero ejerce una acción nociva y tóxica sobre la semilla que germina, tanto a la luz del sol, como en la obscuridad.

Una semilla que germina normalmente desprende gas carbónico. Si la atmósfera en que se efectúa esta germinación es confinada, la semilla no tarda en morir. Mangin ha observado que la acumulación del gas carbónico y, por consiguiente, el empobrecimiento en oxígeno, provocan, siendo por lo demás iguales las otras circunstancias, una disminución de la actividad respiratoria. Si se estudia la relación existente entre el oxígeno absorbido y el ácido carbónico emitido, se nota que la permanencia de la semilla en una atmósfera viciada disminuye en una proporción considerable, a veces de la mitad, la cantidad de oxígeno empleado en reacciones distintas de la formación del gas carbónico; la nutrición de las plantas queda entonces profundamente perturbada.

Gases desprendidos normalmente durante la germinación.—El único gas que se desprende de la semilla durante una germinación normal es el gas carbónico. Tal es la opinión de la inmensa mayoría de los fisiólogos. Schlœsing hijo ha demostrado, empleando métodos gasométricos muy exactos, que, en una campana en la cual germinaban trigo o altramuz, el desprendimiento de nitrógeno era nulo. Para que un experimento así sea válido, es necesario introducir, a medida que se convierte en gas carbónico, oxígeno puro en la campana en que se hace el experimento, de manera que se mantenga en ella una atmósfera con la proporción normal de oxígeno.

Germinación en ausencia del oxígeno. — Un curioso experimento debido a Takahashi (1905) parece demostrar que las semillas de arroz pueden germinar sin el concurso del oxígeno; la plúmula se alarga y puede adquirir una longitud de 3 cm. La pequeña cantidad de aire contenida dentro del tegumento de la semilla, ¿bastaría entonces para provocar la germinación?

Influencia de la temperatura en la germinación.—La influencia del factor *temperatura* ha sido estudiada de muy diferentes maneras. Se puede buscar a qué temperatura, respecto de una especie determinada, aparece más pronto la radícula; se puede también medir la cantidad de gas carbónico producido en un tiempo dado y a una determinada temperatura.

Será preciso, naturalmente, mantener las semillas y las plantitas de ellas nacidas al abrigo de la luz para impedir la aparición de la clorofila.

Para cada semilla existe una temperatura *óptima* para su germinación; existen también una temperatura mínima y una temperatura máxima, por debajo y por encima de las cuales ninguna germinación es posible. En general, a temperatura constante, la respiración, es decir, el desprendimiento de gas carbónico, aumenta rápidamente al principio de la germinación; luego se mantiene aproximadamente estacionario durante algunos días, y después disminuye gradualmente.

Si se compara la cantidad de ácido carbónico emitido durante la germinación, por una parte en el aire puro y por otra en el oxígeno puro, se encuentran cifras muy próximas para una misma temperatura: lo que demuestra que la dilución del oxígeno no ejerce influencia. Por el contrario, las variaciones de la temperatura dan grandes diferencias en el desprendimiento del gas carbónico. He aquí, por ejemplo, los datos que se encuentran para las judías, durante una hora de observación:

Temperaturas de observación	CO^2 producido en: Aire puro. Miligramos	Oxígeno puro. Miligramos
2º	10,5	10,5
6º	21,2	21,2
18º	32,2	31,6
20º	39,6	39,6 (Rischawi)

Las temperaturas mínima, óptima y máxima de germinación para algunas semillas son las siguientes:

	Mínima	Optima	Máxima
Mostaza	0°	27°,4	37°,2
Linaza	1°,8	21°,0	28°,0
Mastuerzo . . .	1°,8	21°,0	28°,0
Trigo	5°,0	28°,7	42°,5
Cebada	5°,0	28°,7	37°,7
Maíz	9°,5	33°,7	46°,2
Calabaza . . .	13°,7	33°,7	46°,2

Hay que esperar muchos días, a la temperatura mínima de germinación, para ver aparecer la radícula; a menudo ocurre que, algunos grados más arriba, la germinación es singularmente acelerada. Así, la mostaza tarda diez y siete días en germinar a 0°, mientras que germina a los nueve días a 3° y a los cuatro días a 5°,7. Recíprocamente, más allá de la temperatura óptima, se necesita un número de días tanto mayor cuanto más elevada es la temperatura.

P. Becquerel ha notado que la resistencia de las semillas a temperaturas muy bajas (aire líquido a —192°, hidrógeno líquido a —252° durante ciento treinta horas) depende únicamente de la cantidad de agua y de gas que contienen sus tejidos. Si el protoplasma alcanza por la desecación su máximo de concentración y, por consiguiente, su mínimo de actividad, escapa completamente a la acción de las bajas temperaturas, y la semilla conserva, como antes, su poder germinativo: semillas (en estado de desecación natural) de haba, guisante, altramuz, arveja, rábano, trigo, etc.; semillas descortezadas de calabaza, maíz, alforjón (germinación más rara). Si las semillas son más ricas en agua, mueren (ricino, *Gleditschia,* pino piñonero). Hemos dicho ya algo de paso respecto de esta resistencia a propósito de la acción del agua sobre las semillas (pág. 299).

Radioactividad y germinación. — Si se opera con un agua de una radioactividad rigurosamente determinada, se observa que la influencia de la radioactividad en la germinación principia a manifestarse claramente a partir del octavo día. En el caso del *ray-grass,* del trigo y del maíz, esta acción favorable afecta al número de granos germinados con respecto al lote testigo, a la longitud de las raicillas y de los tallitos (G. Petit y Ancelin, 1913).

III

MODIFICACIONES QUE EXPERIMENTA EL CONTENIDO DE LA SEMILLA DURANTE LA GERMINACIÓN

Hemos visto anteriormente que el contenido de la semilla consistía en materias nitrogenadas, materias grasas, materias hidrocarbonadas, materias minerales. Todas estas materias experimentan profundas metamorfosis: principian por de pronto solubilizándose, después, ulteriormente, se reinsolubilizan de nuevo en formas diferentes de las iniciales.

Pérdida de peso en bruto de la semilla. — Mientras dura la germinación y la planta no toma ningún elemento del medio exterior, la planta vive exclusivamente a expensas de sus reservas. Una parte de éstas se quema en el acto respiratorio y, en consecuencia, el peso de la materia seca de la semilla *disminuye* continuamente. De esta pérdida de peso vamos a ocuparnos ahora. Su estudio resumirá lo que tendremos que decir a continuación.

Boussingault observa que, durante su existencia, una planta está, en realidad, sometida a dos fuerzas antagónicas: una que tiende a suministrarle materia y otra que tiende a quitársela y, según predomine una u otra, el peso de la planta aumentará o disminuirá. Estas dos fuerzas antagónicas son la función de la asimilación, subordinada a la cantidad de luz que recibe el vegetal, y la respiración, que es un fenómeno de combustión. Según la intensidad de la luz y la temperatura, un vegetal producirá oxígeno o gas carbónico, o no emitirá ninguno de estos gases.

Pero, *en la obscuridad absoluta,* la fuerza eliminatoria es la única que subsiste, y es interesante observar, hasta una época lejana del principio de su germinación, lo que ocurre al vegetal nacido de la semilla, en el cual las hojas no funcionan nunca como aparato reductor.

La *duración de la existencia* de este vegetal privado de luz debe depender del peso de las materias de reserva contenidas debajo de los tegumentos de la semilla: esto es lo que confirma la experimentación.

Se pusieron a germinar diez *guisantes* en un local obscuro: terminó el experimento al cabo de unos cuatro meses. El análisis dió a conocer las siguientes relaciones entre el peso de la semilla inicial y el de la planta final:

	Peso total gr.	Carbono gr.	Hidrógeno gr.	Oxígeno gr.	Nitrógeno gr.
Semillas . .	2,237	1,040	0,137	0,897	0,094
Plantas. . .	1,076	0,473	0,065	0,397	0,072
Diferencia. .	— 1,161	— 0,567	— 0,072	— 0,500	— 0,022

(la pérdida en nitrógeno, que no se reprodujo en otras muestras, fué debida a una alteración, difícil de evitar, de una de las plantas).

Esta tabla es instructiva. Nos enseña que la *pérdida centesimal de peso total* de la materia seca asciende a:

$$\frac{1,161}{1,237} \times 100 = 51,9$$ por 100 de la materia inicial.

Esta pérdida está representada por *carbono* y *agua*.

El *trigo candeal*, cultivado durante siete semanas en la obscuridad, dió resultados del mismo orden: 100 partes de semillas perdieron 57 por 100 de su peso, y la pérdida está representada también por carbono y agua.

Un cultivo de *judías*, hecho paralelamente *a la luz* y *en la obscuridad*, dió los resultados siguientes:

		Peso total gr.	Carbono gr.	Hidrógeno gr.	Oxígeno gr.	Nitrógeno gr.
Obscuridad	Semillas.	0,926	0,4069	0,0563	0,3762	0,0413
	Plantas .	0,566	0,2484	0,0331	0,1981	0,0408
Diferencia	.	—0,360	— 0,1585	— 0,0232	—0,1781	—0,0005
Luz . .	Semillas.	0,922	0,4051	0,0560	0,3746	0,0410
	Plantas .	1,293	0,5990	0,0760	0,5321	0,0404
Diferencia	.	+0,371	+ 0,1939	+ 0,0200	+0,1575	— 0,0006

Así, pues, por la sola influencia del aire y del agua, en un medio exento de abonos, durante la vegetación a la luz, ha habido asimilación de carbono y fijación de hidrógeno y de oxígeno en las relaciones en que están en el agua. El fenómeno es, pues, inverso del que se efectúa en la obscuridad.

Boussingault ha examinado, además, qué es lo que ocurría a las *materias de reserva* de la semilla durante la evolución de ésta en la obscuridad. He aquí lo que ha dado el *maíz* al cabo de un desarrollo de veinte días:

	Peso total gr.	Fécula y dextrina gr.	Glucosa gr.	Materias grasas gr.	Celulosa gr.
Semillas . .	8,636	6,386	0	0,463	0,516
Plantas . .	4,529	0,777	0,953	0,150	1,316
Diferencia .	— 4,107	— 5,609	+ 0,953	— 0,313	+ 0,800

Se ve aquí que la fécula ha desaparecido casi por completo, lo mismo que la mayor parte de las substancias grasas. La suma de la glucosa y de la celulosa no es más que una fracción de las materias ternarias consumidas.

Es útil reproducir aquí una observación que ya hemos hecho antes: la planta que se ha desarrollado en la obscuridad pesa marcadamente menos que la semilla inicial. Sin embargo, es inadmisible que, al organizarse, un vegetal pierda materia. Es necesario fijarse en que se ha comparado el peso de la planta (plantita, cotiledones) con el peso en bruto de la semilla en vez de comparar el *peso de la plantita sola con el peso del embrión inicial*. La pérdida de peso afecta exclusivamente a los cotiledones o a las reservas del albumen: la planta, por el contrario, aumenta de peso seco mientras se organiza.

Estos experimentos preliminares nos enseñan, pues, la *naturaleza* del fenómeno germinativo: la plantita vive a expensas de sus cotiledones o de sus reservas, de que asimila sólo una parte de sus elementos: éstos experimentan profundas transformaciones que tienden a solubilizarlos.

Por otra parte, en una semilla, propiamente hablando, sólo el embrión es un ser vivo. En efecto, se puede aislar

este embrión y forzarlo a desarrollarse a expensas de substancias artificiales que se ponen a su alcance, pero cuya composición deberá ser próxima a la de las que se encuentran normalmente en sus cotiledones o en su albumen.

Disminución progresiva del peso molecular de las materias de reserva durante la germinación.—Ya que el contenido inicial de reservas de la semilla es insoluble en el agua y se solubiliza poco a poco a medida que avanza la germinación, el peso molecular de las substancias primitivas debe disminuir progresivamente. El *punto de solidificación* de los jugos vegetales está en relación con el peso molecular *medio* de las substancias solubles contenidas con estos jugos. Las variaciones de este peso molecular (determinadas mediante el estudio crioscópico) suministran, pues, un dato sobre las metamorfosis que experimentan los principios inmediatos de la semilla. Esto es lo que enseñan las determinaciones de Maquenne (1897). El peso molecular medio de las substancias solubles disminuye durante la germinación del siguiente modo:

		Peso molecular medio
Centeno	Germinación de 8 días	445
	— 12 —	203
	— 30 —	167
Guisante	— 8 —	306
	— 15 —	199
	— 40 —	112
Altramuz blanco	— 15 —	239
	— 22 —	226
	— 40 —	137

Resulta de esta tabla que la transformación de las materias de reserva de la semilla no consiste en una metamorfosis brusca de la fécula y de la grasa en azúcares, y de los albuminoides en amidas: la solubilización de estas substancias es *progresiva*; primero engendra productos de peso molecular bastante elevado para llegar finalmente a términos simples: glucosa y asparagina. El análisis confirma esta deducción: no se puede descubrir, generalmente, la presencia de la glucosa en las semillas durante los primeros días de la germinación, y sin embargo, las semillas contienen ya una notable cantidad de materias solubles.

Vamos ahora a examinar en sus pormenores las metamorfosis de las materias grasas, de las materias amiláceas y de las materias nitrogenadas.

IV

MODIFICACIONES DE LAS MATERIAS GRASAS

Las materias grasas, tan abundantemente esparcidas en ciertas semillas, desaparecen rápidamente durante la germinación. Una parte de estas materias experimenta una oxidación pura y simple con desprendimiento de gas carbónico, otra parte se transforma, a causa de la absorción del oxígeno, en substancias hidrocarbonadas. Sachs señaló por vez primera este hecho capital.

La materia grasa no suministra, pues, solamente alimentos para la combustión respiratoria del vegetal, sino que proporciona también a éste los nuevos materiales indispensables para su crecimiento. Estos materiales, primero *solubles* (glucosa, azúcar), se condensan en seguida con formación de hidratos de carbono insolubles, como la celulosa. Tal es el modo de transformación de las substancias grasas.

Esta transformación ha sido seguida por Fleury (1865) en algunas semillas oleaginosas. He aquí el resumen:

Ricino	Materias grasas, por 100	Azúcares y análogos, por 100	Celulosa, por 100
Semilla inicial. . . .	46,60	2,21	17,99
6 días de germinación .	45,90	»	»
16 — .	33,15	9,95	»
21 — .	17,90	18,27	»
31 — .	10,28	26,90	29,90

Se comprueba fácilmente la absorción del oxígeno durante la germinación comparando el *análisis centesimal* de la semilla al principio y al fin del período germinativo.

	Estado inicial por 100	Estado final por 100
Carbono.	57,41	40,52
Hidrógeno	8,27	5,73
Oxígeno.	21,80	40,01

Citemos, además, las cifras obtenidas por el mismo autor en la germinación de la *colza:*

	Materias grasas, por 100	Azúcares, por 100	Celulosa, por 100
Semilla inicial . .	46,00	7,23	8,25
1.er período. . .	37,93	10,14	11,70
2.° — . .	35,26	12,73	10,59
3.er — . .	33,36	11,70	10,24
4.° — . .	28,35	3,50	18,18

Composición centesimal

	Estado inicial por 100	Estado final por 100
Carbono.	59,80	48,55
Hidrógeno	8,89	7,16
Oxígeno.	17,13	27,48

Fleury ha encontrado resultados análogos en las semillas de *almendras dulces* y de *tártago.*

Esta fijación del oxígeno en la materia grasa es la característica de la germinación de las semillas oleaginosas: se comprende que debe ser así, puesto que los hidratos de carbono en que se transforma la grasa son mucho más ricos en oxígeno que ésta y, en cambio, mucho más pobres en carbono.

Esto es lo que se ve en la siguiente tabla, donde exponemos la composición centesimal de una substancia grasa muy común en las semillas, la *trioleína,* y la composición centesimal de la *fécula:*

	Trioleína $C^3H^5(C^{18}H^{33}O^2)^3$	Fécula $C^6H^{10}O^5$
Carbono.	77,37	44,44
Hidrógeno	11,76	6,17
Oxígeno.	10,87	49,39
	100,00	100,00

Durante la germinación de las semillas oleaginosas hay, en resumen, una pérdida de peso debida a la combustión respiratoria (véase más adelante); pero, correlativamente, hay absorción de oxígeno por las razones que acabamos de indi-

car. De manera que la pérdida de peso por combustión es compensada *parcialmente* por un aumento debido al oxígeno que se fija en la materia grasa, y la pérdida total llega solamente, en el momento de su máximo, del 25 al 30 por 100 del peso de la semilla inicial.

Además, se forma cierta cantidad de agua durante la germinación (Laskovski, 1874). Este hecho ya había sido observado por de Saussure.

No ocurre lo mismo en la semilla amilácea (trigo), durante cuya germinación el oxígeno no interviene más que como comburente. La combustión del carbono debe ir acompañada de la desaparición de los elementos del agua a fin de que los principios inmediatos de la semilla inicial (hidratos de carbono) conserven su composición. En efecto, según veremos más adelante, la fécula de estas semillas se transforma durante la germinación en glucosa y azúcares que tienen una composición centesimal parecida a la de la fécula inicial. También las semillas amiláceas, que no fijan oxígeno, pierden, durante todo el tiempo que dura la germinación, una buena parte de su peso primitivo; esta pérdida llega del 50 al 55 por 100 del peso inicial.

Naturaleza de los hidratos de carbono que se forman en la transformación de las materias grasas.—¿Cuáles son los hidratos de carbono que aparecen sucesivamente durante la destrucción de la materia grasa y cuál es su naturaleza? He aquí, según Leclerc du Sablon (1894), qué es lo que ocurre durante la germinación de la semilla del cáñamo. Después de haber extraído el aceite mediante el éter, se trata el residuo con alcohol de 85 por 160, que disuelve los azúcares y deja sin disolver las dextrinas y las diastasas. En una mitad del líquido se determina la glucosa: en la otra, los hidratos de carbono después de sacarificación mediante el ácido clorhídrico. Se encuentran entonces los siguientes resultados:

Longitud de la radícula	Aceite por 100 de la materia seca	Glucosa por 100 de la materia seca	Hidratos de carbono transformables en glucosa
0,0 cm.	30	0,0	3,0
0,8 »	30	0,7	2,0
2,0 »	24	2,4	5,8
2,5 »	17	4,4	8,1
5,0 »	14	6,1	11,6

Las semillas no germinadas no contienen, pues, glucosa, pero sí notables cantidades de una materia azucarada que sólo es reductora después de la sacarificación. Esta última materia es una *sacarosa* que desempeña en la semilla el papel de substancia de reserva. Al principio de la germinación la sacarosa es consumida por la plantita; así, su proporción disminuye mientras que la glucosa, procedente de la inversión de la sacarosa y después de la transformación del aceite, aparece en cantidades cada vez mayores.

A medida que progresa la germinación, la proporción de azúcar no reductor, que primero había disminuído, aumenta y crece al mismo tiempo que la proporción del azúcar reductor. El penúltimo término de la transformación de la materia grasa sería, pues, una sacarosa no reductora, que finalmente se descompondría y produciría glucosa reductora.

Conviene tratar las semillas desgrasadas, al principio no con agua, sino con alcohol. En efecto, el agua disuelve a la vez los azúcares y las diastasas contenidos en las semillas, especialmente la invertina. Esta, actuando sobre los azúcares no reductores, los transformaría en azúcares reductores. Esta transformación, que se efectúa normalmente en la célula viva, se realizaría fuera del organismo durante las manipulaciones, y así se encontraría que una semilla no germinada contiene glucosa: lo cual no ocurre en realidad.

Saponificación de las materias grasas durante la germinación.—Se sabe con qué facilidad algunos cuerpos grasos neutros (éteres de la glicerina, glicéridos) absorben el oxígeno del aire. Los tejidos impregnados de grasa pueden, a consecuencia de esta oxidación, entrar en combustión viva, dado el calor desprendido cuando el oxígeno se fija en las materias grasas.

Boussingault y Pelouze (1855) habían observado, hace mucho tiempo, que, en la putrefacción de las semillas oleaginosas, la materia grasa se volvía paulatinamente ácida. Se podía presumir, pues, que, durante la germinación, la grasa experimentaba una transformación de este género. Hay por lo tanto motivo para buscar cuál es el mecanismo de esta saponificación germinativa. Esta cuestión ha sido bien examinada por Müntz (1871).

Se ponían las semillas de *rábano, colza* y *adormidera* sobre papel humedecido, en la obscuridad: una vez germinadas, se lixiviaban estas semillas con agua hirviente, que disuelve las materias solubles procedentes del acto germina-

tivo. Después de someter a la evaporación la solución así obtenida, se trata el extracto que queda de residuo con una mezcla de alcohol y éter: es imposible encontrar glicerina en el disolvente. La glicerina *libre* no existe, pues, en el organismo de la planta joven; tal vez ha desaparecido por simple combustión respiratoria, o bien ha sido empleada en la formación de hidratos de carbono. Las plantitas, una vez tratadas con agua, son desecadas y lixiviadas con éter. La solución etérea, evaporada y desecada a 110°, es pesada; se determina la proporción de los ácidos grasos, saponificando la materia grasa con la cal y descomponiendo luego el jabón cálcico con el ácido clorhídrico. Los ácidos grasos, bien lavados con agua, se redisuelven en el éter, se desecan y pesan. He aquí los resultados obtenidos con la semilla de *rábano* germinada a la luz difusa:

	Peso de la materia grasa
5 gr. de semillas no germinadas han dado . . .	1,750
— al cabo de 2 días de germinación.	1,635
— 3 — . .	1,535
— 4 — . .	0,790

La materia grasa de la semilla *no germinada* era neutra al papel de tornasol; la de las semillas germinadas tenía una reacción fuertemente ácida. La materia grasa de cada muestra, tratada por seis veces su peso de alcohol absoluto (este disolvente sólo se apodera de los ácidos grasos *libres)*, ha dado los siguientes resultados, que demuestran que la proporción de los ácidos libres va aumentando progresivamente:

	Antes de la germinación	2 días	3 días	4 días
	gr.	gr.	gr.	gr.
Ácidos grasos libres. .	0,178	0,893	1,215	0,741
Por 100 de la grasa. .	10,17	54,62	70,27	95,06

La semilla de *adormidera* germinando en la obscuri-

dad ha dado las cifras siguientes (operando con 20 gr. de semilla):

	Semilla no germinada gr.	2 días gr.	4 días gr.
Ácidos grasos libres. .	0,975	3,640	3,77
Por 100 de la grasa . .	10,93	53,41	96,92

Por último, la semilla de *colza* ha dado, en cuanto a ácidos libres, por 100 de la grasa: semilla no germinada = =11,07; después de tres días de germinación = 69,56; después de cinco días = 98,05.

Resulta claramente de lo que se acaba de exponer que, al cabo de cinco a seis días, la materia grasa de las plantas jóvenes no contiene más que una cantidad insignificante del glicérido inicial y que, por consiguiente, éste se halla casi completamente saponificado.

Resinificación de la materia grasa. — Hemos visto antes que la germinación de las semillas oleaginosas estaba caracterizada por una absorción de oxígeno y por la transformación de la materia grasa en hidratos de carbono. Müntz ha intentado demostrar que los ácidos grasos pasaban por un estado intermedio: en efecto, la composición de las *resinas,* desde el punto de vista de su riqueza en oxígeno, es intermedia entre la de los ácidos grasos y la de los hidratos de carbono. Tal vez el *estado de resina* es la primera fase de transformación que sufren los ácidos grasos.

Para aclarar la cuestión, se lixivian las semillas, germinadas o no, con agua hirviente. En seguida se desecan, luego se trituran y se tratan con éter. La materia grasa obtenida se saponifica con la potasa, y se descompone el jabón mediante el ácido clorhídrico. El ácido graso se lava con agua, se disuelve en el éter y se deseca. Se evita en todo lo posible, en estas manipulaciones, el contacto con el aire, que determinaría la oxidación directa de la materia grasa.

Müntz ha demostrado mediante el análisis elemental, que había una absorción lenta, pero progresiva, de oxígeno por los ácidos grasos durante el desarrollo del embrión. En los límites en que ha operado el autor, esta absorción no ha pasado de 3 a 4 por 100.

Hanriot ha observado que, por la acción del ozono, las grasas podían fijar 23 por 100 de su peso de oxígeno: no hay formación de ninguna substancia reductora en estas condiciones; no se nota la pre-

sencia ni de fécula, ni de celulosa, ni de azúcar, ni de ácidos fórmico u oxálico. Se forman ácidos grasos: se encuentra entre ellos el ácido acético y tal vez el ácido butírico.

Papel de los ácidos grasos en la formación de los azúcares.—Los ácidos grasos que se hallan en estado de glicéridos en las grasas contenidas en las diferentes semillas son de muy variada naturaleza: unos son *ácidos saturados*, otros son *ácidos no saturados*, y se puede preguntar si estas dos series de ácidos toman parte del mismo modo en la formación de los hidratos de carbono durante la germinación.

Para resolver esta cuestión, Maquenne (1898) se vale de dos especies de semillas: el *cacahuete*, rico en *ácido aráquico* $C^{20}H^{40}O^2$ saturado; y la semilla de *ricino*, que contiene el *ácido ricinoleico* $C^{18}H^{34}O^3$, ácido-alcohol no saturado. La germinación de estas dos especies de semillas se efectúa en la obscuridad.

He aquí las transformaciones que se observan durante el período germinativo:

	Duración de la germinación	Aceite	Materias sacarificables calculadas en sacarosa	Celulosa
Cacahuete	Principio	51,39	11,55	2,51
	6 días	49,81	8,35	3,46
	10 —	36,19	11,09	5,01
	12 —	29,00	12,52	5,22
	18 —	20,45	12,34	7,29
	28 —	12,16	9,46	9,48
Ricino	Principio	51,40	3,46	16,74
	6 días	33,71	11,35	15,48
	10 —	5,74	24,14	11,98
	12 —	6,48	19,51	15,11
	18 —	3,08	8,35	17,68

Si se compara la pérdida en aceite de las semillas con la ganancia en hidratos de carbono de las plantas jóvenes (materias sacarificables, celulosa y productos congéneres), se encuentra que el aumento de estos últimos principios se eleva a $\frac{5,57}{100}$ en el caso del cacahuete y a $\frac{15,92}{100}$ en el caso del ricino, en el momento del máximo. En efecto, la suma de las materias sacarificables y de la celulosa es igual, al principio, a $11,55 + 2,51 = 14,06$ en la semilla de cacahuete. En la época del máximo (día décimooctavo de la germinación), esta suma es igual a: $12,34 + 7,29 = 19,63$. La diferen-

cia 19,63 — 14,06 es igual a 5,57 por 100. La pérdida en aceite ha subido, en el mismo período de tiempo, a 30,94 por 100. En la semilla de ricino, la suma de materias sacarificables y celulosa es igual, al principio, a 3,46 + 16,74 = 20,20. En la época del máximo (día duodécimo de la germinación), esta suma es igual a 24,14 + 11,98 = = 36,12. La diferencia 36,12 — 20,20 = 15,92 por 100: la pérdida en aceite ha llegado, en el mismo período de tiempo, a 45,66 por 100. Así, pues, la destrucción de 100 partes de aceite de cacahuete no ha dado más que 18 partes de hidratos de carbono, mientras que la destrucción de 100 partes de aceite de ricino ha dado 34 partes de hidratos de carbono.

Resulta de esto que, en el ricino, la transformación es mucho más rápida que en el cacahuete.

El ácido aráquico no parece, pues, contribuir más que escasamente a la formación de los hidratos de carbono, mientras que el ácido ricinoleico intervendría de una manera mucho más eficaz, reservando de todos modos, como hace observar Maquenne, la producción posible de los hidratos de carbono a expensas de las materias nitrogenadas que contiene la semilla.

La diferente *constitución química* de los dos ácidos, aráquico y ricinoleico, debe ser evidentemente tenida en cuenta. Los ácidos grasos *saturados* servirían sobre todo de *alimento respiratorio*. Por el contrario, los ácidos grasos no saturados de la serie oleica, como el ácido ricinoleico, que contienen un *grupo alílico*, puesto en libertad por la combustión de los dos extremos de la cadena, se transformarían primero en glicerina y después en sus polímeros:

$$CO^2H - (CH^2)^7 - \boxed{CH = CH - CH^2} - CH(OH) - (CH^2)^5 - CH^3.$$

Esta interesante conclusión, relativa a los distintos papeles que desempeñarían los ácidos grasos saturados y no saturados en la génesis de los hidratos de carbono, no debe, sin embargo, generalizarse de un modo absoluto.

Constituye también un punto importante sobre el cual conviene hacer algunas salvedades, el relativo a la aparición progresiva, y en grandes cantidades, de los ácidos grasos durante la germinación, aparición acompañada de la destrucción de la glicerina. Ciertas semillas, en efecto, conservan durante todo el tiempo de su germinación notables proporciones de *cuerpos grasos neutros no saponificados* (semilla de *Helianthus*).

Prueba directa de la oxidación de las semillas en la formación de las materias azucaradas. — Parece, pues, verosímil, según lo que acabamos de decir, que la materia grasa se transforma por oxidación en hidratos de carbono, pasando, tal vez, por un estado intermedio de *resina*. Mazé ha dado de ello la siguiente prueba. Pero, a fin de provocar la acumulación de las

substancias procedentes de las acciones diastásicas, se suprime la plantita.

Se ponen a germinar en agua destilada semillas de cacahuete. En un momento dado se separan los cotiledones y se les pone encima de perlas de vidrio impregnadas de agua destilada. Se hace circular en el aparato una corriente de aire todo el tiempo que dura el experimento. Las manipulaciones se hacen de un modo aséptico; la disposición adoptada permite recoger el gas carbónico desprendido.

Al cabo de diez y siete días se obtiene el siguiente resultado: los azúcares y las materias sacarificables han aumentado de 5,6 por 100 del peso inicial; pero, además, hay *aumento del peso de la materia sometida al experimento* (peso inicial de los cotiledones=2,2613 gr.; peso final = 2,6153 gr.; o sea un aumento de 15,64 por 100). Y no son las materias nitrogenadas de reserva las que podrían producir tal aumento de peso por oxidación, porque se debería observar lo mismo en las semillas amiláceas y no es esto lo que ocurre. El origen de este aumento debe atribuirse a las materias grasas, las cuales, como ya hemos hecho notar, no pueden convertirse en hidratos de carbono más que por oxidación. He aquí, por otra parte, la composición comparada de las materias solubles en el éter: 1.°, en las semillas normales; 2.°, en los cotiledones del experimento anterior, al cabo de diez y siete días de ensayo:

	1.°	2.°
Carbono.	74,74	68,13
Hidrógeno	12,28	10,38
Oxígeno.	12,98	21,49
	100,00	100,00

Causas de la transformación de los cuerpos grasos. — Existe una substancia cuyo papel es poco conocido en la germinación de las semillas oleaginosas: esta substancia es la *glicerina*. Probablemente sirve para la producción de materias azucaradas. Brown y Morris han alimentado embriones de cebada con glicerina y han observado en éstos la formación de fécula, como cuando se nutren estos embriones con soluciones de diversos azúcares.

En cuanto a la causa de la saponificación de los cuerpos grasos durante la germinación, puede ver el lector lo que dijimos en el estudio hecho antes de las *diastasas saponificantes* (pág. 135).

V

MODIFICACIONES DE LAS MATERIAS AMILÁCEAS

Estudiemos ahora la germinación de una semilla esencialmente amilácea, es decir, de una semilla cuyas reservas están constituídas casi exclusivamente por hidratos de carbono (cereales, por ejemplo).

Aquí las cosas son mucho más sencillas. Una parte de estos hidratos de carbono desaparece por combustión respiratoria; otra parte, experimentando la acción de varias diastasas, primero se *solubiliza* formando materias azucaradas no reductoras, cuyos pesos moleculares son incomparablemente menores que el de la fécula inicial. Luego estos azúcares solubles se condensan y engendran la celulosa *insoluble*. Tal es la serie de fenómenos que presenta la germinación de las semillas esencialmente amiláceas.

Notemos que, en la semilla oleaginosa, a partir del momento en que la mayor parte del aceite se ha transformado en azúcares, ocurren los mismos cambios ulteriores: condensación de estas materias azucaradas y formación de celulosa insoluble.

La germinación de las semillas amiláceas está caracterizada por la transformación de la fécula en maltosa, sacarosa y glucosa, por la acción de la *maltasa* (pág. 133) y de la *amilasa* (pág. 132). La fécula primero es corroída y después disuelta. El azúcar de caña se transforma ulteriormente en glucosa con el contacto de la *invertina* (pág. 131). Una elevación de temperatura favorece en alto grado estas diversas reacciones. Kuhnemann (1875) fué el primero en indicar la presencia de la sacarosa en la cebada germinada.

Es fácil poner de manifiesto la presencia de la glucosa en las semillas amiláceas desde que la radícula ha adquirido la longitud de algunos centímetros. Basta para ello triturar la semilla germinada (trigo, lenteja) con un poco de agua, filtrar el líquido y hacer actuar éste sobre el líquido de Fehling a la ebullición: se obtiene inmediatamente un preci-

pitado rojo de óxido cuproso. Una semilla no germinada, tratada de la misma manera, no da esta reacción.

Mientras que una parte de los hidratos de carbono así solubilizados sirve para la combustión respiratoria del joven vegetal, otra parte se insolubiliza y se convierte en celulosa, como enseña la siguiente tabla:

			Hidratos de carbono solubles y sacarificables		Celulosa	
		Peso seco	Peso absoluto	Por 100 del peso de la semilla	Peso absoluto	Por 100 del peso de la semilla
		gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
100 semillas de Phaseolus multiflorus	no germinadas.	109,12	58,0	53,1	7,6	6,9
	al cabo de 8 días	96,06	47,0	48,9	8,2	8,5
	— 10 —	85,79	30,6	35,6	9,4	10,9
	— 15 —	78,69	20,0	25,4	10,7	13,6
	— 20 —	96,00	19,4	20,2	14,3	14,8
	— 22 —	99,68	17,0	17,0	15,1	15,1
	— 27 —	137,27	32,0	23,3	20,5	14,9

Así, cuando el peso de los hidratos de carbono, tanto solubles como sacarificables, disminuye a medida que progresa la germinación, la celulosa aumenta en valor absoluto desde el principio de ésta.

La sacarosa se forma en notables cantidades durante la germinación de los cereales. Petit (1895) ha encontrado las siguientes cantidades de este azúcar en la operación del *remojo* de la cebada:

		Principio miligr.	1 día miligr.	2 días miligr.	3 días miligr.	4 días miligr.	5 días miligr.
Para 1000 semillas	Azúcar reductor .	24	29	30	31	32	30
	Sacarosa .	214	230	260	307	384	406

Lindet (1893) ha hallado en la misma:

Durante la germinación . .	2 días	3 días	4 días	6 días	7 días	9 días	10 días
Sacarosa por 100 de cebada tostada con 10 % de agua . .	0,99	1,85	2,20	2,31	2,74	2,84	3,09

Los líquidos de lixiviación del agua de cebada contienen, junto con sacarosa, azúcares reductores, cuya cantidad aumenta con regularidad desde el principio hasta el fin de la germinación.

Celulosa de reserva. — La celulosa que forman las paredes muy gruesas del albumen de algunas semillas se disuelve durante la germinación y sirve para la construcción de la planta joven. A esta celulosa Reiss ha dado el nombre de *celulosa de reserva*. La enzima que interviene en esta acción disolvente es la *citasa* (pág. 134). La celulosa de reserva es una *hemicelulosa;* forma *manosa* por hidrolisis (pág. 159).

Bourquelot y Herissey han demostrado que, durante la germinación de la semilla del *algarrobo (Ceratonia siliqua)*, se forma un fermento soluble *(seminasa)*, que actúa sobre el albumen de esta semilla, de la misma manera que obra la diastasa sobre los albúmenes amiláceos, pero engendrando manosa y galactosa. Lo mismo ocurre con las semillas de *alfalfa* y de *alholva*.

Naturaleza de las substancias consumidas en la germinación.—He aquí la reseña sumaria de una nueva teoría de la germinación, cuyos hechos esenciales, primero dados a conocer por Godlewski, han sido nuevamente estudiados por Mazé (1900). Según esta teoría, los fenómenos de anaerobiosis desempeñarían un papel preponderante en la germinación.

Cuando frutos maduros, raíces de remolachas, plantas adultas, están privados de aire, se forma alcohol en sus tejidos (Lechartier y Bellamy, Pasteur, Müntz). Del mismo modo, cuando el oxígeno no llega ya a los cotiledones, la semilla está sujeta a una asfixia parcial (véase más adelante: *Respiración intramolecular*).

Inmergidas completamente en el agua, las semillas no germinan. Si se opera asépticamente en un frasco tapado con algodón en rama, se encuentra, al cabo de algunos días, que el líquido contiene *alcohol* o *azúcares reductores*. La semilla ha solubilizado, pues, estas substancias de reserva; pero, dada la influencia de la aireación, no ha podido hacerlas servir para la evolución de la joven planta.

Esta solubilización es muy activa, porque las semillas de guisante inmergidas en el agua han perdido: en seis días 10,6, en doce días 17,3, en veintisiete días 27,2 por 100 de su peso inicial. Mientras que, si se matan las semillas por medio de una temperatura

de 100°, y luego se inmergen, no pierden más que 11,6 por 100 de su peso inicial en tres días, 12,06 en diez días, 12,5 en quince días; los fenómenos diastásicos están entonces completamente suprimidos. Por lo tanto, la transformación de la fécula del guisante en glucosa es un fenómeno de hidratación *independiente* de la presencia del oxígeno del aire. La formación del alcohol, a partir de la glucosa, es un fenómeno de desdoblamiento efectuado por la zimasa, pero independiente también de la presencia del oxígeno: $C^6H^{12}O^6 = 2\ CO^2 + 2\ C^2H^6O$. Se deduce de esto que la inmersión en el agua de las semillas *oleaginosas* debe dar un resultado muy diferente, y que éstas permanecerán intactas o bien, a lo menos, perderán una fracción de su peso mucho menor, porque la materia grasa de estas semillas exige la intervención del oxígeno para llegar a ser asimilable (véase más adelante). Así, se ha encontrado en las semillas de cacahuete (que contenían 53,66 por 100 de materias grasas):

Al cabo de:	10 días	29 días	59 días	94 días
Pérdida por 100 de materia seca.	7,7	11,63	14,82	14,35

La materia grasa sigue casi inatacada, porque, al cabo de cincuenta y nueve días, quedaba aún 51,98 por 100. Los azúcares solubles, la fécula y la materia nitrogenada son las materias casi exclusivamente consumidas, y se forma sólo una pequeña cantidad de alcohol.

La conclusión de lo que precede es, pues, la siguiente: el *oxígeno simplemente disuelto* no puede subvenir a las necesidades de las semillas puestas en las condiciones favorables para la germinación. Sin embargo, si, en vez de escoger semillas voluminosas, se opera con semillas de pequeñas dimensiones, como las de *colza* (tres o cuatro semillas en un tubo de ensayo que contiene 5 cm.³ de agua destilada esterilizada), se observa que dos de ellas presentan, en general, un desarrollo regular, aun cuando su germinación se efectúa más lentamente que la de las semillas iguales expuestas al aire. Generalmente estas semillas están entre dos aguas, las hojas cotiledóneas alcanzan la superficie libre del líquido, el tejido de las hojas inmergidas presenta huecos, y la plantita, gracias a esta adaptación a la vida acuática, se forma una atmósfera interna de la cual toma el oxígeno que necesita. Este gas puede circular con bastante rapidez en los tejidos profundos para impedir su asfixia.

Pero, cuando, en el volumen del líquido citado (5 cm.³), se inmergen muchas semillas, entonces ocurre lo mismo que en el caso de las semillas voluminosas: la velocidad de disolución del oxígeno es suficiente para alimentar estas semillas.

Volviendo a la producción de alcohol en las semillas sumergidas, se puede admitir que este cuerpo aparece como un producto *normal* y *necesario* de la digestión de las materias hidrocarbonadas en las semillas que están en vía de evolución germinativa. El alcohol se formaría en las células vivas a expensas de la glucosa y estas células funcionarían normalmente como las células de la levadura.

¿Es utilizado directamente este alcohol por la planta? Mazé cree que esto es poco probable. En efecto, cuando se estudia de cerca la atenuación de la vitalidad de los gérmenes en las semillas sumergidas, se encuentra que esta atenuación es debida, no solamente a la insuficiencia del oxígeno, sino también a la presencia de productos tóxicos. En realidad se puede descubrir en el líquido la presencia del *aldehido etílico* CH^3CHO. Pero, esta substancia, tóxica, no debe tener, en las condiciones normales de la germinación, más que una *existencia transitoria* y, a causa de su gran poder de combinación, formaría el *elemento plástico del vegetal*.

Por otra parte, la transformación del aceite en azúcar en las semillas oleaginosas parece ser un *fenómeno diastásico*. Estas semillas absorben mucho más oxígeno que gas carbónico pierden durante su germinación (véase más adelante). Son capaces de transformar un *grupo de hidrocarburo* CH^2 en un *grupo alcohólico* CH.OH por fijación de oxígeno. La diastasa oxidante que interviene entonces es capaz de actuar *in vitro*. Porque, si se forma con semillas de ricino y arena una pasta viscosa y se somete luego esta pasta a una temperatura de 53° en capa delgada, se encuentra, al cabo de algunas horas, que, calentada a 100°, la mezcla que contenía partículas en suspensión se convierte en un líquido en el cual estas partículas caen rápidamente al fondo del vaso, mientras que una muestra testigo, calentada desde el principio a 100°, da una emulsión que filtra con dificultad. El sedimento está formado por resinas, y el *líquido contiene azúcar;* 1,27 por 100 del peso de las semillas al cabo de siete horas; 2,65 al cabo de veintidós horas. El testigo no da azúcar. Si el acceso del aire es insuficiente, la acción diastásica queda fuertemente atenuada.

Esto tiende a demostrar que las semillas oleaginosas no oxidan su materia grasa y no la transforman en azúcar más que en contacto con una diastasa que obra en presencia de un exceso de oxígeno. Sin embargo, esta oxidación *in vitro* no ha sido observada siempre, después, por diferentes autores.

La conclusión final de Mazé, relativamente a la acumulación de los productos de la fermentación (alcohol) en los tejidos de un vegetal o en el medio en que se halla en el caso de las semillas inmergidas privadas de oxígeno libre, es la siguiente: los productos de fermentación se acumulan, no porque constituyan residuos no utilizables por la planta, sino porque el ser vivo está situado en condiciones que le impiden sacar partido del trabajo que ha hecho.

Esta conclusión interesante, pero tal vez demasiado atrevida, supone una utilización normal del alcohol por parte de las plantas seperiores; y es poco probable que la oxidación del alcohol proporcione azúcares u otros hidratos de carbono. Si es verdad que un ascomiceto, el *Eurotyopsis Gayoni*, hace fermentar el azúcar con una energía comparable a la de la levadura y al mismo tiempo es capaz de *asimilar* todos los productos de la fermentación, alcohol,

glicerina, ácido succínico, es difícil admitir que sea éste un modo general de nutrición, sobre todo en el caso de los vegetales superiores.

Según Kostytchew (1908), la producción de alcohol por las semillas de guisante inmergidas disminuye mucho con el contacto con el aire; y, de la misma manera, si se descortezan estas semillas después de ablandarlas en el agua, no dan ya alcohol. La presencia del tegumento, cuya dureza se opone a la penetración del oxígeno, es, pues, la única causa de la producción de alcohol. La absorción del oxígeno en las semillas descortezadas adquiere una intensidad considerable. La hipótesis de que el alcohol constituye una fase intermedia en la combustión de las materias azucaradas parece, en consecuencia, poco verosímil.

VI

MODIFICACIONES DE LAS MATERIAS NITROGENADAS

Todas las semillas contienen materias nitrogenadas. La mayor parte del nitrógeno se encuentra en ellas *en forma albuminoide,* y las diferentes materias proteicas de la semilla tienen una composición centesimal bastante parecida. Hemos visto que el peso del carbono disminuía siempre durante la germinación, porque, al lado de los fenómenos de transformación de la materia grasa y de la materia amilácea, existen fenómenos de combustión respiratoria que eliminan una proporción mayor o menor de carbono en forma de gas carbónico.

El nitrógeno se comporta de otra manera: en la semilla germinada, el nitrógeno permanece en cantidad constante; no hay eliminación de nitrógeno *en forma libre, ni en forma combinada* durante la germinación normal. Para asegurarse de ello, es necesario siempre, en un experimento de germinación, referir la cantidad de nitrógeno a 100 semillas, por ejemplo, o a 100 plantitas germinadas. Si se refiriese la cantidad de nitrógeno a 100 partes de materia seca, se encontraría, a medida que la germinación avanza, que el nitrógeno aumenta: esto demuestra simplemente que una parte de la materia hidrocarbonada desaparece por combustión.

Hemos visto, a propósito de la transformación de las materias grasas y de las materias amiláceas, que una parte

de ellas se volvía soluble y se convertía en azúcares, y que luego estos azúcares a su vez experimentaban una serie de condensaciones que los conducían finalmente al estado de celulosa, es decir, de hidrato de carbono insoluble.

Se observan fenómenos análogos en la materia proteica depositada en la semilla. La materia proteica pasa del estado coloide, no dializable, al estado cristaloide y difusible. Las substancias que entonces se originan, corresponden a la serie de las *amidas* y de los *ácidos amínicos*. Entre los productos más abundantes de esta descomposición de los albuminoides, han sido aislados y caracterizados los siguientes, de los cuales se ha tratado ya antes (págs. 255 y 262).

Asparagina (amida aspártica, ácido aminosuccinámico $C^4H^8N^2O^3 = CO^2H.CH^2.CH(NH^2).\ CO\ (NH^2)$, generalmente levógira); *leucina* (ácido aminocaproico $C^6H^{13}NO^2$); *ácido aspártico* (ácido aminosuccínico $C^4H^7NO^4$); *ácido glutámico* (ácido aminoglutárico $C^5H^9NO^4$); *glutamina* ($C^5H^{10}N^2O^3$); *arginina* (ácido guanidinaminovaleriánico $C^6H^{14}N^4O^2$); *tirosina* (ácido paraoxifenilaminopropiónico $C^9H^{11}NO^3$); *fenilalanina* (ácido fenilaminopropiónico $C^9H^{11}NO^2$); *amoníaco* (NH^3).

La primera fase de la descomposición de la materia nitrogenada en la semilla en vías de germinación puede ponerse de manifiesto de una manera muy sencilla. Basta hacer germinar las semillas en la obscuridad y, al cabo de algunos días, se trituran los tallos ahilados, para comprobar que el tercio, y a veces hasta la mitad de la materia nitrogenada inicial, ha pasado a ser soluble en el agua. La evaporación del líquido da una mezcla de substancias cristalizadas, entre las cuales generalmente predomina la asparagina.

Si se logra mantener el ahilamiento durante un tiempo suficiente, se observa que estos compuestos amínicos y amidados aumentan continuamente, hasta cierto límite, porque la totalidad del nitrógeno albuminoide de la semilla nunca se transforma en nitrógeno soluble.

Pero, cuando la semilla germina *normalmente* y presenta sus primeras hojas á la luz, la transformación de los albuminoides iniciales en amidas es mucho más limitada. En efecto, a medida que aparecen los productos de descomposición amínicos y amidados, se transforman éstos de nuevo en albuminoides por la acción de los hidratos de carbono procedentes de la función clorofiliana. Estos nuevos albuminoides son, si no idénticos, a lo menos muy parecidos a los que contenía la semilla inicial.

Resulta de esto que, en las condiciones normales, el tránsito del

nitrógeno del estado albuminoide al estado amidado es *provisional y rápido*, y es seguido de cerca por la transformación inversa: la conversión de la amida en albuminoide. Solamente en ausencia de la luz hay acumulación de amidas en la plantita.

En cuanto al *azufre* y al *fósforo* que forman parte constituyente de ciertas moléculas complejas que se hallan en las materias proteicas iniciales de la semilla, sufren una oxidación que los convierte en el *estado mineral* de ácidos sulfúrico y fosfórico. En la regeneración de los albuminoides a expensas de las amidas y de los hidratos de carbono que produce la función clorofiliana, el azufre y el fósforo vuelven nuevamente al *estado orgánico* en las nuevas moléculas proteicas que se forman. Tal es, brevemente expuesto, el mecanismo general que rige las transformaciones de la materia nitrogenada durante la germinación.

Se puede comparar la dislocación por oxidación de la molécula albuminoide que conduce a los ácidos amínicos con la que ocurre en el organismo animal y conduce a la urea. La diferencia esencial entre estas dos categorías de productos últimos, consiste en que la urea es un producto de *excreción* puro y simple, incapaz de regenerar una molécula albuminoide en el organismo animal, mientras que la asparagina, por ejemplo, en las condiciones habituales, no tiene más que una existencia efímera y reproduce, por reducción, las materias proteicas. La asparagina y las demás amidas no son, pues, más que *productos temporales de excreción*.

Concepción teórica de la descomposición y de la regeneración de los albuminoides.—Si se compara la composición de la asparagina, tomada como el tipo más común de las amidas encontradas durante la germinación, con la de la legúmina, materia albuminoide frecuente en las semillas (suponiendo que estos dos cuerpos contienen la misma cantidad de nitrógeno, porque este elemento no desaparece durante la germinación), se observa que, para pasar de la legúmina a la asparagina, es necesario *que intervenga un fenómeno de oxidación* acompañado de una pérdida de carbono y de hidrógeno. Lo que puede expresarse esquemáticamente por la ecuación:

$$\underbrace{C^{72}H^{112}N^{18}O^{22}S}_{\text{Supuesta fórmula de la albúmina}} + 50\ O^2 = SO^4H^2 + 9\ \underbrace{C^4H^8N^2O^3}_{\text{Asparagina}} + 36\ CO^2 + 19\ H^2O.$$

$$\frac{CO^2}{O^2} = \frac{36}{50} = 0{,}72.$$

Inversamente, si se quiere pasar de la asparagina a la legúmina, se ve que el primero de estos cuerpos debe perder oxígeno y ganar carbono:

	Legúmina	Asparagina
C.	64,9	36,36
H.	8,8	6,07
N.	21,2	21,21
O.	30,6	36,36
		100,00

La transformación de los albuminoides en amidas, e inversamente, se efectúa durante todo el curso de la vegetación con una gran energía en ciertas partes del vegetal en vías de crecimiento (sobre todo en las hojas). La migración de la materia nitrogenada de un punto a otro de la planta no puede realizarse más que si la materia albuminoide se solubiliza. Estos productos solubles van a los órganos en vías de crecimiento, y en ellos experimentan una nueva solubilización. Se trata, pues, aquí de un fenómeno muy general que se extiende mucho más allá del período germinativo, porque sólo cesa con la maduración de la semilla y la desecación de la planta.

Examinaremos sucesivamente la formación de las amidas y su regeneración en forma de albuminoides.

Formación de las amidas durante la germinación.— La solubilización diastásica de los albuminoides se efectúa muy rápidamente. Si se toma como ejemplo la semilla de altramuz, que es especialmente rica en nitrógeno, se observa una destrucción rápida de la materia proteica, con aparición de crecientes cantidades de asparagina (Schulze y Barbieri.)

	Albuminoides por 100 de la materia seca	Asparagina por 100 de la materia seca
Semillas no germinadas. . . .	51,00	»
Al cabo de 4 días de germinación.	44,44	3,30
— 7 — .	31,88	11,20
— 12 — .	16,00	22,30
— 25 — .	11,56	25,00

Junto con la asparagina se encuentran pequeñas cantidades de glutamina, leucina y tirosina. Todos estos cuerpos amidados se emplean

en la regeneración de nuevos albuminoides, pero en una época determinada: de donde la posibilidad de encontrar otra vez alguno de estos compuestos en un momento dado de la vegetación, mientras que otro ya había desaparecido, a causa de una nueva síntesis. A menudo también las amidas que se acumulan en la joven planta, a veces en notable cantidad, son las que menos rápidamente o más difícilmente son utilizadas en la regeneración de las materias proteicas. Así, unas veces se acumula la asparagina y parece ser ella la amida cuya transformación en albuminoide es la más lenta; otras veces, como ocurre en la *calabaza*, la asparagina es rápidamente utilizada, y es la glutamina la que se acumula (Schulze.)

Conviene recordar aquí que los productos de descomposición de las materias albuminoides que se encuentran durante la germinación son a menudo los mismos, desde el punto de vista *cualitativo*, que los que se obtienen en la destrucción artificial de estas materias por procedimientos puramente químicos, *excepto la asparagina*.

Acumulación de las amidas, su límite.—La observación enseña que la totalidad de las materias proteicas de la semilla no se convierte nunca completamente en asparagina o en amidas congéneres. En efecto, aun en la obscuridad, es decir, en las condiciones más favorables para la acumulación de las amidas y más desfavorables para la asimilación, la plantita ahilada elabora nuevos tejidos por medio de las materias hidrocarbonadas que la respiración no ha destruído; utiliza, pues, una parte del nitrógeno amidado que ella contiene en abundancia en este momento para regenerar cierta cantidad de materia proteica.

De todas maneras, esta producción de la asparagina puede ir muy lejos. Así es que Bréal, operando en un invernáculo insuficientemente iluminado, ha visto tallos de altramuz blanco que acumulaban en estado de asparagina hasta el 75 por 100 del nitrógeno total en ellos contenido.

La elevación de la temperatura, durante la germinación de la semilla, ejerce una influencia notable en la producción de esta amida, porque aumenta la energía respiratoria del vegetal.

Semillas pertenecientes a familias muy diversas, como las leguminosas y las gramíneas, germinando en condiciones casi idénticas, elaboran cantidades muy distintas de amidas con respecto a la cantidad de materia albuminoide inicial que contienen. Schulze y Flechsig han demostrado que, si se hacen germinar algunas semillas correspondientes a estas dos familias y se examina el resultado cuando las plantitas han adquirido aproximadamente la misma altura (6 a 7 centímetros), se encuentra que el altramuz ha transformado ya cerca del 40 por 100 de su nitrógeno inicial en nitrógeno amidado, la lenteja 30, y la judía sólo 20. En el caso de las gramíneas el centeno ha transformado 27 por 100, la avena 17 y el trigo 13. Debe, pues,

deducirse de esto que las semillas que germinan no dan cantidades de amidas proporcionales a sus reservas primitivas en materias nitrogenadas.

Regeneración de las materias albuminoides a expensas de las amidas y de los hidratos de carbono. — Una teoría bastante verosímil de la producción de las materias albuminoides, partiendo de las amidas, es la siguiente. Es debida a O. Müller (1887).

Cuando una planta ahilada, en la cual se ha producido una acumulación de asparagina, es expuesta a la luz en contacto con el gas carbónico, se observa la desaparición de la amida. Si se mantienen en la obscuridad partes jóvenes de una planta que continúan unidas a la planta madre, y se deja que se efectúe la asimilación en los órganos más viejos, se encuentra asparagina en las partes que permanecen en la obscuridad. La persistencia de la asparagina en las partes de la planta substraídas a la luz no depende de una falta de hidratos de carbono, porque estas partes reciben los hidratos de carbono que las partes asoleadas les envían. Por el contrario, tan pronto como una planta, o una porción de la planta ahilada, está expuesta a la luz, la asparagina desaparece, si no en su totalidad, por lo menos en gran parte. Se deduce de esto, pues, que la asimilación del carbono, *directamente efectuada,* por el vegetal ahilado primero, procura a éste las materias ternarias necesarias para la transformación de la asparagina en substancias proteicas.

Una nueva prueba de esta transformación es la siguiente. Si se toman plantas normales en las que se ha comprobado la ausencia de la asparagina, y se introducen tallos jóvenes o viejos de estas plantas en un tubo de vidrio cerrado que contiene potasa y en el cual circula una corriente de aire exento de gas carbónico, estos tallos no asimilarán; se observa entonces que la asparagina se acumula en sus tejidos. La luz *sola* no desempeña, pues, papel alguno; no basta su presencia para que desaparezca de nuevo la asparagina. Tan pronto como la planta puede asimilar normalmente en presencia del ácido carbónico, desaparece la asparagina. Por lo tanto, el

ejercicio normal de la función clorofiliana es indispensable para la síntesis de los albuminoides realizada a expensas de las amidas acumuladas en la obscuridad y de los hidratos de carbono de nueva formación; se comprende así por qué la síntesis de los albuminoides no puede efectuarse más que en los órganos asimiladores, *a lo menos en la mayoría de los casos.*

Es probable que otras amidas, nacidas de la descomposición de los albuminoides en la obscuridad, desaparezcan a la luz por un mecanismo análogo al que acabamos de exponer relativamente a la asparagina. Añadamos que no todos los hidratos de carbono pueden servir indistintamente para la regeneración de los albuminoides a expensas de las amidas.

La teoría de Müller no permite, sin embargo, explicar la presencia de los albuminoides en la raíz, puesto que ésta no asimila directamente carbono. Por esto conviene repetir lo que hemos dicho hace poco: esta teoría es verdadera en la mayoría de los casos, pero no puede evidentemente aplicarse a la raíz.

Resulta de un gran número de experimentos que plantas, ahiladas en la obscuridad y que flotan en soluciones azucaradas, hacen desaparecer la asparagina que se habrá acumulado primero en sus tejidos; la glucosa parece ser el cuerpo ternario más apropiado para favorecer esta transformación.

Zaleski (1897) ha demostrado que, si se hacen flotar en la obscuridad hojas de *Helianthus* en una solución que contiene nitratos y materias azucaradas, aumenta su riqueza en albuminoides.

Por último, algunos autores admiten que el nitrógeno de los ácidos amínicos que se engendran en la descomposición de los albuminoides se separa en forma de *amoníaco:* éste serviría luego para la reconstrucción de las materias proteicas por intermedio de la asparagina.

En efecto, la acumulación del amoníaco se observa en el caso en que se someten embriones a la acción de un anestésico (tolueno) que retarda la formación de la asparagina. Se observa también una producción de amoníaco en el caso de que la regeneración de los albuminoides sea imposible a causa del agotamiento de las reservas hidrocarbonadas que contribuyen normalmente a la manifestación de

este fenómeno. Las plantas hambrientas que han agotado sus reservas orgánicas móviles acumulan amoníaco (Butkewitsch, 1909).

(A propósito de la influencia de la luz en la formación de los albuminoides, puede verse lo que hemos dicho anteriormente respecto de la producción de estas substancias, pág. 243.)

Causas de la transformación de los albuminoides en asparagina. — Hemos explicado antes que una substancia albuminoide no puede transformarse en asparagina más que en virtud de un fenómeno de oxidación.

Palladin ha enseñado que, cuando se introducen plantas verdes en un medio desprovisto de oxígeno, donde no permanecen más de unas veinte horas, estas plantas conservan intactas sus substancias próteicas.

Si se hacen germinar semillas en la obscuridad, se observa, determinando el gas carbónico desprendido, que el máximo de la absorción del oxígeno coincide con el máximo de descomposición de los albuminoides. Las amidas en general, y la asparagina en particular, no aparecen, pues, más que *a consecuencia de una oxidación* que afecta a substancias proteicas. Pero, es cierto además que la oxidación del albuminoide va precedida de una hidrolisis del mismo. Es probable que la asparagina misma proceda de la descomposición de otras amidas más complicadas y que represente la *última amida*, la *amida más simple,* que se origina a causa de la dislocación de la molécula albuminoide inicial. Esto resume las teorías actuales relativas a la manera como se comporta el nitrógeno proteico durante la germinación.

De todas maneras, se puede admitir, con E. Schulze, que la asparagina, tan abundante en las semillas en vías de germinación, no es, salvo una pequeña parte, un producto inmediato de la destrucción de los albuminoides, sino solamente el *primer grado de su regeneración.* Los fermentos proteolíticos que contiene la semilla actuarían como los fermentos pancreáticos en la digestión intestinal. En los dos casos, los productos de la descomposición de las materias proteicas serían los mismos: ácidos amínicos y bases hexónicas. En este concepto, la asparagina no debería ser considerada, pues, más que como el primer producto de síntesis en la vía de la reconstrucción de las substancias albuminoides.

Recordemos, por último, en lo que se refiere al fenómeno de la regeneración de los albuminoides partiendo de las amidas, que, si la planta evoluciona normalmente, estas amidas desaparecen en gran parte a medida de su producción, puesto que la función asimiladora les cede los hidratos de carbono que recientemente ha elaborado. Estos hidratos de carbono en estado naciente (tal vez el mismo aldehido metílico) se presentan así en una forma muy favorable a los procesos sintéticos de reconstitución de las materias proteicas.

VII

EL AZUFRE Y EL FÓSFORO DURANTE LA GERMINACIÓN

El azufre y el fósforo forman parte integrante de moléculas orgánicas de la semilla en el estado de reposo. No existen sulfatos minerales libres en la semilla o, a lo menos, su proporción es muy pequeña comparada con la del azufre total. Probablemente ocurre lo mismo con el fósforo, que se halla en cantidades incomparablemente mayores que el azufre.

En la semilla no germinada el azufre se encuentra en la molécula albuminoide formando parte del grupo de la *cisteína* y de la *cistina* (pág. 256). A medida que los albuminoides se destruyen y originan las diversas amidas antes indicadas, el azufre a su vez se oxida. Se deben encontrar, pues, *proporciones crecientes de ácido sulfúrico* cuando avanza la germinación.

La oxidación del azufre orgánico puede ponerse de manifiesto de una manera muy perceptible haciendo germinar las semillas en la obscuridad. En este caso, las amidas que se forman no regeneran albuminoides o, a lo menos, según ya hemos dicho antes, esta regeneración es muy lenta y muy limitada.

Esta aparición del ácido sulfúrico es debida a la oxidación del azufre orgánico, porque, en los experimentos de Schulze (1876) respecto de esto, las plantas observadas germinaban en agua destilada. Si se determina la cantidad de azufre contenida en la materia albuminoide inicial y se calcula cuál es la fracción de esta materia que ha sido descompuesta al cabo de quince días, se encuentra que el azufre de la última ha pasado casi cuantitativamente al estado de ácido sulfúrico.

En las condiciones *normales* de la germinación este ácido sulfúrico sólo tiene una existencia transitoria; porque, a medida que las amidas reproducen los albuminoides, una

parte del azufre oxidado experimenta una reducción y entra en combinación en la nueva molécula.

El fósforo existe en la semilla en estado de complejo orgánico. Cuando la semilla germina, se observa la aparición progresiva del fósforo en *forma mineral*. Las lecitinas y las nucleínas desaparecen poco a poco durante la germinación y así se comprende que el fósforo que sale de su molécula se oxide: el azufre y el fósforo se comportan, pues, de la misma manera en la semilla germinada.

Los trabajos de Posternak (1903) demuestran que la mayor parte del fósforo orgánico de la semilla (70 a 90 por 100) se encuentra en ella en una forma muy especial, a la cual el autor da el nombre de ácido *anhidrooximetilenodifosfórico* o *fitina* $C^2H^8P^2O^9$. Este producto parece formarse en la misma función clorofiliana y resultar de la fijación del aldehido metílico en el ácido fosfórico con eliminación de agua:

$$2\ CH^2O + 2\ PO^4H^3 - H^2O = C^2H^8P^2O^9.$$

Presenta la singular propiedad de ser descompuesto, por la acción de los ácidos minerales, en *inosita* y ácido fosfórico:

$$3\ C^2H^8P^2O^9 + 3\ H^2O = C^6H^{12}O^6 + 6\ PO^4H^3.$$

Este ácido desempeña el papel de materia de reserva; en las semillas de las leguminosas está localizado en los granos de aleurona. Se le encuentra también en todos los tubérculos, bulbos, rizomas, es decir, en todos los órganos donde se almacenan materias de reserva. Es evidente que su destrucción durante la germinación engendra la mayor parte del ácido fosfórico mineral observado.

Recientes investigaciones han demostrado que la dislocación de la fitina es debida a una enzima especial, la *fitasa*. Es probable que esta dislocación sea una verdadera *saponificación*, y que la fitina no sea más que un éter fosfórico de la inosita combinado con la potasa y la magnesia.

La fitina, por otra parte, se encuentra bastante esparcida en todos los órganos vegetales.

VIII

EVOLUCIÓN DE LA MATERIA MINERAL DURANTE LA GERMINACIÓN

Desde que la semilla enterrada en el suelo principia a germinar absorbe, no sólo agua, sino también materias minerales. Esta absorción presenta algunas particularidades dignas de ser notadas en las condiciones *normales* de la germinación en el seno de la tierra de labor. Sabemos que una semilla que germina disminuye por de pronto de peso a causa de la combustión de una parte de sus reservas. Mientras la planta (conjunto de los cotiledones y la plantita, supuestos desecados a 110°) tenga un peso inferior al de la semilla inicial, el nitrógeno no varía; persiste en la misma cantidad que en la semilla. Tan pronto como la planta pasa del peso de su semilla, el nitrógeno aumenta, porque la función asimiladora naciente va acompañada de una formación de albuminoides cuyo nitrógeno procede del suelo. En el mismo momento, el ácido fosfórico, cuyo peso seguía invariable como el del nitrógeno desde el principio de la germinación, aumenta paralelamente con el nitrógeno (formación de lecitinas, de nucleoalbúminas).

La potasa experimenta las variaciones siguientes. Mientras la semilla disminuye de peso, la cantidad de potasa permanece sensiblemente invariable. Pero, desde que la semilla, después de haber llegado al máximo de su pérdida de peso, principia a aumentar, la potasa procedente del suelo pasa a la planta: en este momento la función clorofiliana se ejerce de una manera activa. Esto confirma el papel de la potasa en la formación de la fécula, del cual volveremos a ocuparnos. La planta toma, pues, al suelo potasa algo antes que ácido fosfórico. Desde el comienzo de la germinación, la sílice y la cal procedentes del suelo ascienden en la planta, pero sin relaciones definidas y, evidentemente, de un modo independiente

una de otra. Esta absorción de la sílice, y tal vez también la de la cal, parecen estar relacionadas con la transformación de las celulosas fácilmente sacarificables (hemicelulosas) en celulosa insoluble.

Así, la absorción de las materias salinas procedentes del suelo no se efectúa, desde el principio, respecto de todos los elementos a la vez. Aquellos de estos elementos que son más útiles para la existencia ulterior del vegetal parecen ser también los que últimamente absorbe la semilla en germinación (G. André, 1899).

Papel de los cotiledones durante la germinación.— El embrión se desarrolla primero a expensas de sus cotiledones; la plantita construye sus tejidos tomando de ellos materias orgánicas y minerales, y los agota tanto más cuantas menos substancias nutritivas encuentra a su disposición en el medio exterior.

Examinemos, pues, cómo se hace esta organización. Tomaremos como ejemplo el caso de las semillas del *Phaseolus multiflorus* que germinan en una buena tierra de labor, y de las cuales se separan los cotiledones de la plantita en cada ensayo. He aquí la tabla de un experimento:

		Peso seco			Cenizas		
		Cotiled. gr.	Plantas gr.	gr.	Cotiled. gr.	Plantas gr.	gr.
29 junio de 1901 Peso de 100 semillas		»	»	135,40	»	»	5,06
8 julio	Peso de 100 plantitas	86,36 +	26,55 =	112,91	4,188 +	3,432 =	7,620
10 —		55,24 +	49,32 =	104,56	3,027 +	6,455 =	9,482
12 —		34,35 +	78,55 =	112,90	2,122 +	11,845 =	13,967
14 —		29,80 +	86,07 =	115,87	2,410 +	13,522 =	15,922
18 —		29,16 +	125,38 =	154,54	2,014 +	20,888 =	22,902

La proporción de cenizas de los cotiledones, va disminuyendo sin cesar y, cuando el peso de la plantita sola es casi igual al de la semilla inicial, las cenizas de los cotiledones no pesan más que los dos quintos de las de la semilla, aun cuando estos cotiledones hayan absorbido regularmente, desde el principio de la germinación, sílice y cal, lo que ocurre también en las plantitas.

He aquí las variaciones del ácido fosfórico, de la potasa y del nitrógeno total en las mismas épocas que antes:

	PO^4H^3			K^2O			Nitrógeno		
	Cotil.	Plantas		Cotil.	Plantas		Cotil.	Plantas	
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
Semillas.	»	»	1,706	»	»	2,477	»	»	4,61
1...	0,854+	0,860=	1,714	1,597+	0,833=	2,430	2,81+	1,79=	4,60
2...	0,497+	1,203=	1,700	0,999+	1,691=	2,690	1,82+	3,08=	4,90
3...	0,233+	1,531=	1,764	0,501+	2,387=	2,888	0,76+	4,06=	4,82
4...	0,187+	1,704=	1,891	0,399+	3,520=	3,919	0,62+	4,82=	5,44
5...	0,215+	2,006=	2,221	0,454+	5,228=	6,582	0,67+	6,03=	6,70

El ácido fosfórico y el nitrógeno no varían mientras el conjunto (cotiledones + plantitas) disminuye en peso seco. La cantidad de estos dos elementos que pierden los cotiledones se encuentra en la plantita. Esta no principia a tomar ácido fosfórico del suelo hasta el momento en que al mismo tiempo le toma nitrógeno. Si se busca en los cotiledones la relación entre la cantidad de nitrógeno y la de ácido fosfórico, en diferentes períodos, se halla que esta relación apenas varía y que los dos elementos en cuestión abandonan los cotiledones en las mismas proporciones relativas para pasar a la plantita.

La potasa de los cotiledones pasa poco a poco a la plantita; en el momento en que el conjunto ha adquirido el mínimo de peso, ha emigrado ya el tercio de esta base. Cuando la plantita sola ha adquirido aproximadamente el peso de la semilla inicial, los cotiledones no contienen más que el cuarto de su potasa primitiva. La plantita recibe, pues, al principio, su potasa de los cotiledones; pero, desde que la función clorofiliana comienza a actuar, lo que se reconoce en que se detiene la pérdida de peso del sistema total, la plantita principia a apoderarse de la potasa que le ofrece el suelo.

Se ve, pues, de una manera muy clara en el ejemplo anterior que, en las condiciones normales de la germinación, los cotiledones son, al principio, la única fuente de materias nutritivas de la joven planta en lo que concierne al nitrógeno, al ácido fosfórico y a la potasa.

Un experimento como el que acabamos de describir, en el cual se sigue el paso de las materias salinas, a la plantita por una parte y, por otra, el aumento de esta plantita en materias orgánicas, permite definir lo que puede llamarse el *fin de la germinación* propiamente dicha. Llega un momento, en efecto, en que la ganancia de la plantita en materia orgánica es igual a la pérdida de esta materia de los cotiledones. Más allá de este período, la ganancia de la plantita en materia orgánica sobrepuja cada vez más a la pérdida de los cotiledones. Entonces la función clorofiliana se ejerce ampliamente,

y este momento debe ser considerado como el fin de la germinación propiamente dicha. La plantita no toma ya a sus cotiledones más que una escasa cantidad de materia mineral y una cantidad menor todavía, si no dudosa, de materia orgánica.

Sabido es que los cotiledones no se agotan nunca completamente en materias minerales, ya sea que pasen a ser inútiles para el joven vegetal, más apto para encontrar ahora en el suelo los elementos fijos que necesita, ya sea que estas materias minerales se encuentren en una forma impropia para la asimilación (G. André, 1901.)

Nutrición de las plantitas desprovistas de sus cotiledones.—El siguiente hecho demuestra la utilidad de los cotiledones respecto de la nutrición de la plantita, hasta en una época bastante lejana del principio de la germinación. Se toman semillas algo voluminosas *(Phaseolus multiflorus)* y se hacen germinar en un buen suelo, luego se les quitan lo más pronto que se pueda los cotiledones (doce días después de la siembra, en el mes de junio). Se compara luego la evolución de las plantas así mutiladas con la de plantas normales que vegetan en una parcela de tierra próxima.

Aumento de peso seco de 100 plantitas

	24-26 junio 1903 gr.	26-28 junio gr.	28-30 junio gr.	30 junio 7 julio gr.	2-4 julio gr.	4-8 julio gr.
Provistas de sus cotiledones .	9,71	21,20	18,19	20,53	41,37	18,67
Privadas de sus cotiledones .	0,06	7,67	8,18	8,70	10,74	16,19

Resulta de este cuadro que, del 24 de junio al 7 de julio, el peso total de 100 plantitas secas, provistas de sus cotiledones, ha aumentado de 129,17 gr. (de esta cantidad 18,986 gramos de materia mineral), mientras que, durante el mismo período de tiempo, el peso de 100 plantas secas, desprovistas de sus cotiledones, no ha aumentado más que de 51,54 gr. (de esta cantidad 8,599 gr. de materia mineral). El aumento total en el segundo caso no representa, para la materia orgánica sola, más que 58,9 por 100 del aumento total del primer caso y, respecto de la materia mineral, 45,3 por 100. El trabajo de asimilación se hace, pues, más fácilmente en las primeras plantas que en las segundas (G. André, 1903).

Sabido es que el albumen de una semilla puede ser reemplazado por ciertas mezclas artificiales. Dubard y Urbain (1913) han comparado el desarrollo de un embrión privado de su albumen con el de un embrión que ha permanecido intacto en la semilla. Para ello, después de haber inmergido durante algunas horas en agua semillas de trigo, cebada y avena, se extraen los embriones y se les pone en una solución mineral de Knop de 0,5 gr. por litro. El séptimo día, los

embriones aislados, lo mismo que las semillas testigos, son puestos en macetas. El vigésimo día se observa que todas las plantas se han desarrollado, con ligera ventaja en las testigos. El albumen no es, pues, indispensable para la evolución de la plantita, pero su influencia es favorable, sobre todo en los primeros días de la germinación. Operando de la misma manera con semillas exalbuminadas, las plantitas siguen vivas, pero se desarrollan poco. Si se quiere obtener un desarrollo completo, es necesario no quitar los cotiledones (en las judías, por ejemplo) hasta al cabo de siete a diez días: lo que confirma lo que hemos dicho antes a propósito de la ablación de los cotiledones.

El *tamaño* de las semillas ejerce una notable influencia en el desarrollo general y la anatomía de la planta. Si se comparan entre sí dos vegetales de la misma especie, procedente el uno de una semilla grande y el otro de una semilla pequeña, se observa que el primero sale del suelo y florece más rápidamente que el segundo. La relativa escasez de las reservas produce, en la evolución de la planta, un efecto análogo al que ejerce la supresión artificial de una parte de las reservas de la semilla (Delassus, 1913.)

IX

GERMINACIÓN EN LA OSCURIDAD.—AHILAMIENTO

A propósito de la pérdida de peso en bruto de la semilla, hemos recordado, al principio de este capítulo (pág. 313) los experimentos de Boussingault sobre la germinación en la obscuridad.

Son todavía necesarias algunas observaciones sobre este punto. Una semilla que germina en la obscuridad vive exclusivamente a expensas de sus cotiledones: la plantita, delgada y amarillenta, procedente de esta semilla, toma de ellos la materia mineral y la materia orgánica que necesita para fabricar sus tejidos. Una proporción de materia orgánica, más o menos considerable segúnl a naturaleza de las reservas, desaparece por combustión, de manera que el peso de la plantita siempre es muy inferior al de la semilla inicial.

El carácter general de las plantas ahiladas en la obscuridad es el de presentar un grado de hidratación mucho mayor que el de las plantas normales. Además, la transpiración, que depende de la radiación solar, está suprimida, y las materias salinas en contacto con las raíces ascienden en la planta mucho más difícilmente. A veces se acumulan solamente en el eje hipocotiledóneo.

Cuando la germinación se efectúa en el suelo, pero todavía en la obscuridad, se observa que ciertas materias salinas, como la sílice y

la cal, son absorbidas por la planta, mientras que el ácido fosfórico a menudo no lo es. El nitrógeno no varía y, cuando se observa una disminución de este elemento, es porque las semillas o las plantas han experimentado un principio de putrefacción.

La elevación de la temperatura activa mucho la ascensión de ciertas materias minerales en la planta ahilada: esto es lo que ocurre con la sílice. Es notable ver cómo esta substancia, casi insoluble en el agua, adquiere tan rápidamente una forma difusible. Asciende en la planta con exclusión de toda otra materia salina.

La asparagina y las amidas análogas se acumulan, como ya sabemos, en la planta ahilada, pero en cantidades muy variables y que dependen de la proporción de hidratos de carbono contenidos en la semilla. Así es que, si se ahilan en la obscuridad, durante tiempos iguales, por una parte semillas de altramuz y por otra semillas de maíz, se observa que el altramuz contiene mucha más asparagina que el maíz. Los hidratos de carbono solubles en el agua o sacarificables por los ácidos diluídos están en mayor proporción en el maíz que en el altramuz, y se comprende que la regeneración de los albuminoides por medio de la asparagina sea más fácil en el maíz que en el altramuz: de ahí la existencia de una escasa cantidad de asparagina en las plantitas ahiladas del maíz y la de una cantidad mucho mayor de esta amida en las plantitas de altramuz. Se debe también tener en cuenta la mayor riqueza en nitrógeno de las semillas de leguminosas.

Influencia de las diferentes regiones del espectro en la germinación. — Esta cuestión se relaciona directamente con el problema del ahilamiento. Cuando se exponen semillas en germinación a la acción de luces coloreadas, se observa siempre un desarrollo incompleto. La asimilación está dificultada y la absorción de las substancias minerales por la planta no es proporcional a la cantidad de materia orgánica asimilada.

Según los trabajos de R. Weber (1875), la absorción del ácido fosfórico es notable en el caso de las luces roja y amarilla, muy débil en el caso de las luces azul y violeta. En la tabla adjunta de la repartición de las cenizas, se notará que el experimento es incompleto desde el punto de vista de las conclusiones que de él podrían sacarse, porque, en el caso de la luz blanca, la planta no pasó del peso de su semilla: se trata, en el presente ensayo, cuya duración fué de cuarenta y cuatro días, de un cultivo de guisantes hecho en arena calcinada adicionada de una solución mineral completa.

Cantidad de cenizas en 100 plantas secas

	Peso seco de 100 plantas gr.	Cenizas totales gr.	Potasa gr.	Cal gr.	Ácido fosfórico gr.
Semillas iniciales.	22,565	0,659	0,333	0,017	0,215
Luz blanca. . .	21,506	2,746	1,044	0,689	0,359
— roja . . .	12,573	1,683	0,710	0,306	0,289
— amarilla . .	14,992	2,007	0,797	0,454	0,342
— verde . . .	7,603	1,032	0,430	0,158	0,224
— azul . . .	10,850	1,556	0,663	0,328	0,235
— violeta . .	9,453	1,116	0,431	0,191	0,225
Obscuridad . .	10,514	1,064	0,473	0,130	0,216

Los ensayos de esta clase merecen fijar la atención, y es de desear que se emprendan de nuevo experimentos similares.

De trabajos más recientes, debidos a Lubimenko (1907), se puede deducir que la asimilación de las materias orgánicas almacenadas en las semillas o en los bulbos de una planta es influída por la luz, y que el máximo de asimilación de estas substancias corresponde a una intensidad luminosa muy débil, apenas suficiente para la producción de la clorofila. A partir de esta intensidad, el aumento ulterior de la luz disminuye la asimilación de las reservas orgánicas.

Germinación en la obscuridad en presencia de ciertas substancias orgánicas. — Se puede prolongar la existencia de un vegetal ahilado con la condición de suministrarle, en forma asimilable, carbono orgánico. Mazé (1899) hizo germinar semillas de arveja en la obscuridad. Cuando sus tallos tienen una longitud de 8 a 10 cm., se ponen en soluciones nutritivas que contienen por litro: una cantidad variable de glucosa, 1 gr. de fosfato potásico, 1 gr. de nitrato sódico, 2 gr. de carbonato cálcico, 0,2 gr. de sulfato magnésico, sulfato ferroso, cloruro de manganeso e indicios de cloruro de zinc. He aquí los resultados obtenidos:

	Duración del experimento	Glucosa añadida por 100	Peso seco de la planta gr.	Peso seco de la semilla gr.	Asimilación gr.
1.	50 días	1	0,2690	0,2028	+ 0,0662
2.	39 —	2	0,2767	—	+ 0,0739
3.	92 —	4	0,8382	—	+ 0,6354
4.	92 —	6	0,7100	—	+ 0,5072
5 Testigo	53 —	0	0,1616	—	— 0,0412
6 — sin nitrógeno.	» —	0	0,1334	—	— 0,0694

Este experimento demuestra que, en estas condiciones, la planta ha podido tomar su carbono a la glucosa y sacar de esta absorción la energía necesaria para la elaboración de los albuminoides a expensas del nitrógeno nítrico, aun en la obscuridad. Las plantas así tratadas poseen raíces normales en vez de presentar las raíces largas y filiformes de las plantas ahiladas. Sus tallos son muy largos y sus hojas minúsculas. Los nitratos se encuentran en los tallos hasta la proximidad del último internodio.

X

EVOLUCIÓN DE LAS YEMAS, DE LOS TUBÉRCULOS Y DE LOS BULBOS

Las yemas, los tubérculos y los bulbos contienen reservas hidrocarbonadas y nitrogenadas muy importantes: el modo como se desarrollan puede relacionarse con lo que ocurre en la semilla.

Yemas. — La evolución de las yemas presenta muchas particularidades comunes con la evolución germinativa de la semilla. En las plantas vivaces las materias de reserva son depositadas en el leño. Cuando se acerca la primavera, estas materias pasan a la yema, la cual puede ser considerada como un embrión susceptible de nutrirse a expensas suyas. Los materiales de reserva consisten en fécula y substancias nitrogenadas, análogas a las que se encuentran en los cotiledones.

Recíprocamente, cuando la yema se ha abierto y lleva hojas, el nuevo tallo se alarga y almacena, por efecto del ejercicio de la función clorofiliana, nuevas reservas hidrocarbonadas y nitrogenadas, que servirán para la nutrición de la yema del año próximo. La cantidad de materias de reserva así contenidas en el leño depende de la abundancia de la florescencia y del número de frutos formados. Si éstos son escasos, el aprovisionamiento del leño en hidratos de carbono, tales como la fécula, puede ser notable. Si los frutos son

numerosos, los depósitos de reserva estarán mucho menos aprovisionados.

Se puede seguir fácilmente la evolución de las yemas estudiando órganos voluminosos de esta índole, por ejemplo, los del castaño de Indias, que se cortan exactamente en su base y cuyo desarrollo se sigue progresivamente desde fin de invierno hasta que se han abierto por completo.

Desarrollo de la yema del castaño de Indias

	Peso de 100 yemas desecadas a 100° gr.	Agua en 100 partes de materia gr.	Nitrógeno total en 100 yemas gr.	PO^4H^3 en 100 yemas gr.	Potasa en 100 yemas gr.
I. 26 de febrero de 1900; desarrollo nulo	84,39	44,37	1,17	0,59	0,88
II. 14 de marzo; extremidades verdes	64,76	61,24	1,11	0,52	0,75
III. 29 de marzo; extremidades verdes	65,74	66,64	1,27	0,60	0,83
IV. 9 de abril; yemas entreabiertas .	64,04	72,21	1,74	0,83	1,06
V. 18 de abril; abertura de algunas hojas . . .	86,83	79,30	3,47	1,60	2,23
VI. 23 de abril; inflorescencias aparentes . . .	294,61	82,20	12,81	5,92	9,75
VII. 28 de abril; flores en capullos. .	448,18	81,62	18,50	8,29	14,61

Como en la semilla, se ve por de pronto que el peso de la materia seca de la yema disminuye durante el primer tiempo de su evolución, a causa de la intensidad de los fenómenos de combustión respiratoria; a la vez, la absorción del agua por las yemas crece en considerables proporciones.

En el momento en que la yema alcanza su peso inicial (quinta toma de muestras), el nitrógeno total ha triplicado de peso y, a la vez, el ácido fosfórico casi también ha triplicado. Existe, pues, un notable paralelismo entre la absorción del

nitrógeno y la del ácido fosfórico, fenómeno que ya hemos observado en la semilla.

La cantidad de potasa queda poco más o menos estacionaria hasta que la yema ha alcanzado su peso inicial; entonces, el peso de la potasa es dos veces y media mayor que al principio. Este aumento súbito coincide con la aparición de las primeras hojas, es decir, con el momento en que la función clorofiliana principia a actuar.

Los hidratos de carbono solubles disminuyen progresivamente durante el primer tiempo de la evolución de la yema; lo mismo ocurre con los hidratos de carbono sacarificables por los ácidos diluídos. Esta disminución, análoga a la que se observa en la semilla que germina, cesa en el momento en que aparece la función clorofiliana. En cuanto a la celulosa, su peso aumenta rápidamente desde el principio de la evolución de la yema.

Así es posible comparar la *germinación* de las yemas con la de la semilla, tanto desde el punto de vista de la distribución de la materia mineral como de la transformación de los materiales orgánicos (G. André, 1900).

Analizando el leño subyacente de la yema, por una parte antes del desarrollo de ésta y, por otra, después de haberse abierto, se puede observar, inversamente, su empobrecimiento en materias nitrogenadas, en materias sacarificables y en cenizas.

Tubérculos y bulbos. — Vamos a encontrar fenómenos análogos a los precedentes al estudiar la evolución de los tubérculos y la de los bulbos.

Las condiciones físicas de evolución de los tubérculos y de los bulbos son las mismas que las de las semillas: presencia de agua, de oxígeno y cierto grado de temperatura. Pero, como los tubérculos y los bulbos son marcadamente más ricos en agua que las semillas, muchos de ellos pueden germinar espontáneamente, sobre todo cuando se eleva la temperatura. En efecto, en estado de madurez, las patatas, por ejemplo, contienen aproximadamente de 70 a 80 por 100 de su peso de agua; el topinambur, la cebolla, dan cifras parecidas. Todos

estos tubérculos o bulbos contienen materiales de reserva idénticos a los que hemos encontrado en las semillas: fécula o inulina, azúcares solubles (liliáceas), materias nitrogenadas; la solubilización de estas substancias da motivo para observaciones análogas a las que hemos hecho a propósito de la germinación de las semillas.

Examinemos ahora algunas particularidades interesantes de esta evolución:

1.º *Caso de las patatas.*—Según Kellermann, quien ha seguido durante catorce semanas la germinación de las patatas, se observa una disminución muy rápida en el peso de la materia seca, sobre todo a partir de la octava semana: la fécula es la materia que experimenta mayor pérdida. Su desaparición, notable a partir de la quinta semana, va acompañada de la emigración de la materia nitrogenada en fuerte proporción. La celulosa no parece constituir una materia de reserva: su peso hasta aumenta un poco del principio al fin del agotamiento de los tubérculos. Lo mismo ocurre con las materias grasas. Los dos tercios de las materias fijas han desaparecido; la emigración afecta sobre todo al ácido fosfórico y a la potasa.

2.º *Caso de los bulbos.*—La evolución de los bulbos ha sido bien estudiada por Leclerc du Sablon (1897-1898). He aquí los principales hechos que el autor ha puesto de relieve:

En los bulbos de lirio, tulipán, jacinto, los tubérculos de *Arum*, celidonia, cólquico, la fécula se transforma primero en dextrina; después, en una época más avanzada, se ven aparecer las materias azucaradas. El poder reductor del conjunto de los azúcares aumenta a medida que avanza la digestión de la fécula.

En la cebolla y el asfodelo, cuyas reservas hidrocarbonadas no contienen fécula, se puede poner fácilmente de manifiesto la transformación de la sacarosa en glucosa por la acción de las diastasas. Así, en un bulbo de cebolla en germinación se han encontrado 24 por 100 de glucosa y 6 por 100 de sacarosa. Si se pistan las escamas con agua para lograr que las diastasas se pongan directamente en contacto con las reservas y favorecer así su acción digestiva, se observa que

toda la sacarosa desaparece con aumento correlativo de la glucosa.

Estos hechos manifiestan la analogía que existe entre la germinación propiamente dicha y la evolución de los bulbos.

Vida amortiguada de los bulbos y de los tubérculos. —Dos períodos consecutivos de actividad de una planta vivaz están siempre separados por un período de vida amortiguada, muy marcado sobre todo en las plantas que acumulan reservas en sus órganos subterráneos (jacinto, tulipán, celidonia, asfodelo). Cuando sus frutos son maduros, estas plantas se marchitan, y sus bulbos o tubérculos no presentan, durante muchos meses, ninguna modificación exterior. La mayoría de estas plantas pasan *al estado de vida atenuada* al principio del verano y vuelven a vegetar en otoño. Es la inversa de lo que ocurre en los árboles y arbustos, en que el período de vida amortiguada coincide generalmente con el invierno.

Los bulbos y los tubérculos, al principio de su vida atenuada, presentan el carácter común de contener en esta época una cantidad de agua mínima. Esta escasa hidratación no está en relación con la sequedad del suelo; la causa de este fenómeno debe buscarse en el poder osmótico de las substancias que las células contienen.

Al principio de la vida amortiguada, las materias de reserva hidrocarbonadas pasan por un máximo (fécula, inulina, dextrina, sacarosa). Falta casi generalmente la glucosa, excepto en la cebolla y el asfodelo.

Durante el período de reposo de los bulbos, se presentan importantes modificaciones. Así, en 1.º de junio, principio de la vida atenuada en el jacinto, se han encontrado en 100 partes de materia seca: fécula, 29; dextrina, 26; sacarosa, 1. Hasta el mes de octubre no hay cambios exteriores apreciables y, sin embargo, se encuentran entonces: fécula, 26; dextrina, 21; sacarosa, 3; glucosa, 2. La digestión de las reservas, por lo tanto, ha principiado, y el bulbo puede germinar espontáneamente. Examinado el 10 de septiembre, un bulbo de cebolla en estado de reposo contenía 10 por 100 de glucosa y 22 de sacarosa; el 4 de diciembre, bulbos análo-

gos conservados fuera de la tierra contenían 17 por 100 de glucosa y 7 de sacarosa. Al principio de la vida atenuada las diastasas faltan casi por completo; se forman después, provocan la digestión de las reservas y hacen posible la germinación (Leclerc du Sablon).

Los fenómenos de vida atenuada y de utilización de las reservas son también muy claros en las orquídeas indígenas.

Germinación del grano de polen. — Del mismo modo que la semilla, el grano de polen contiene enzimas: una amilasa y una invertasa. Su desarrollo se efectúa a expensas de los materiales de reserva que él contiene y que se encuentran también en los tejidos del estilo.

Resumen de los fenómenos de la germinación.— 1.º Una semilla en estado de vida latente contiene una cantidad de agua demasiado escasa para germinar. Sin embargo, por pequeña que sea esta cantidad de agua, ocasiona una debilitación del poder germinativo, gracias al concurso del oxígeno del medio.

2.º Para hacer germinar una semilla es indispensable poner en contacto con ella cierta proporción de agua, capaz de hincharla y de preparar así el trabajo de las diastasas y la hidrolisis de las materias de reserva que contiene debajo de sus tegumentos. Una semilla no germina más que cuando puede disponer de una cantidad de oxígeno suficiente y cuando la temperatura del medio en que se halla ha alcanzado un determinado grado.

3.º Las materias grasas de reserva se oxidan durante el curso de la germinación: una parte desaparece por combustión total; otra se transforma en substancias hidrocarbonadas. Los hidratos de carbono insolubles de reserva se transforman primero en azúcares no reductores y después en azúcares reductores; éstos son últimamente los generadores de la celulosa. Las materias nitrogenadas de reserva se hidratan, se oxidan y originan amidas solubles, las cuales no tienen más que una existencia temporal, en las condiciones normales de la germinación. Estas amidas, en contacto con los

hidratos de carbono nuevamente formados por la función clorofiliana, se transforman en albuminoides.

4.º La evolución de las yemas, de los tubérculos y de los bulbos es del todo comparable a la germinación de una semilla. Siendo la proporción de agua contenida normalmente mucho mayor que la que contienen las semillas, su desarrollo puede ser espontáneo cuando la temperatura se eleva y el trabajo interno de solubilización de sus reservas, posible a causa de la presencia de esta agua, está bastante avanzado.

CAPÍTULO VIII

RESPIRACIÓN

Comprobación del fenómeno respiratorio en las condiciones habituales.—Respiración en la obscuridad.—Estudio exacto del cociente respiratorio.—Respiración de las plantas, órganos, tejidos desprovistos de clorofila.—Teoría de la respiración.- Calor vegetal. —Respiración intracelular.—Presencia y papel de los ácidos orgánicos en los vegetales.

Generalidades sobre el fenómeno respiratorio.—La respiración consiste esencialmente en un cambio de gases acompañado de una combustión. El vegetal absorbe oxígeno y expulsa gas carbónico. Esta combinación del carbono con el oxígeno se efectúa en todas las células; proporciona al vegetal el calor y, por consiguiente, la energía que necesita para efectuar los trabajos químicos íntimos que en él se realizan.

La eliminación del gas carbónico puede proceder de *una combustión pura y simple:* se observará entonces, si se determina la cantidad de oxígeno que entra y la del gas carbónico que se desprende, que el cociente $\frac{CO^2}{O^2}$ es igual a la unidad (ya que el gas carbónico contiene su volumen de oxígeno).

Pero, cuando se estudian las diferentes fases de la respiración vegetal, se nota que la relación anterior es bastante raramente igual a 1. En efecto, ocurre a veces que este cociente es menor que la unidad: lo que quiere decir que a un volumen determinado de oxígeno que entra corresponde

un volumen menor de gas carbónico que sale. En otros términos, cierta cantidad de oxígeno *se fija* en el vegetal y produce una oxidación que no se manifiesta por un desprendimiento correlativo de gas carbónico. Este caso ocurre especialmente en la formación de los ácidos orgánicos a expensas de los hidratos de carbono. Inversamente, el cociente $\frac{CO^2}{O^2}$ puede pasar de la unidad; ocurre esto, por ejemplo, en la combustión completa de algunos ácidos orgánicos. También es posible observar una absorción de oxígeno sin desprendimiento correlativo de gas carbónico (formación de ácidos a baja temperatura) y, inversamente, desprendimiento de gas carbónico sin absorción concomitante de oxígeno: fenómeno observado durante ciertos desdoblamientos.

Es cierto que, en todos los fenómenos de combustión respiratoria, el oxígeno no interviene *directamente* para quemar tal o cual substancia de reserva: ésta debe sufrir previamente una especie de preparación de parte de enzimas apropiadas.

Vida aerobia y anaerobia.—La célula vegetal absorbe oxígeno tomándolo directamente de la atmósfera en que se halla: entonces se llama *aerobia*. A veces, si le falta el oxígeno libre, se ve obligada a descomponer ciertas substancias oxigenadas a las cuales quita oxígeno, y entonces desprende gas carbónico: esta vida de la célula, independiente de la presencia del oxígeno libre, se llama *vida anaerobia*. Por último, una célula es a veces capaz de vivir, ya sea en presencia, ya sea en ausencia del oxígeno; se dice de ella que es aerobia o anaerobia *facultativa*.

Complejidad del fenómeno respiratorio.—Por lo que acabamos de exponer, se ve lo complejo que es el fenómeno respiratorio. La relación entre el gas oxígeno absorbido y el gas carbónico emitido es esencialmente variable, no sólo con la naturaleza de los productos sobre que actúa la respiración, sino también con las condiciones exteriores, como la temperatura y el periodo del desarrollo del vegetal. Además, siendo

el gas carbónico notablemente más soluble en el agua que el oxígeno, queda parcialmente disuelto en los líquidos de la planta; por esto el análisis de la atmósfera en que una planta ha respirado no basta para tener una idea exacta de los cambios de gases que se han efectuado durante la respiración; es preciso extraer la *atmósfera interna* del vegetal. Solamente conociendo la composición de esta atmósfera interna es posible evaluar con exactitud el *cociente* respiratorio, es decir, la relación $\frac{CO^2}{O^2}$. A menudo se ha descuidado esta precaución; resulta de ello que muchos experimentos hechos sobre la respiración, en los cuales se proponía estudiar el cociente respiratorio, están afectados por errores más o menos graves. Volveremos más adelante a este punto.

Al principio del estudio de la respiración vegetal no insistiremos nunca demasiado en el *valor* que debe concederse al cociente respiratorio $\frac{CO^2}{O^2}$. No se trata aquí más que de la *resultante* de numerosos fenómenos: unos, bien definidos, cuando se refieren a substancias bien definidas; otros, mal definidos todavía, porque los términos sucesivos, ya sea de la edificación de la materia orgánica, ya sea de su destrucción, son imperfectamente conocidos. El cociente $\frac{CO^2}{O^2}$ sólo tiene, pues, una *significación puramente relativa;* su empleo es cómodo para representar esquemáticamente ciertas relaciones, pero nada más. Las interpretaciones de este cociente deben darse siempre con muchas salvedades.

Dividiremos este estudio de la respiración en siete partes: 1.ª *Comprobación del fenómeno en las condiciones habituales;* 2.ª *Respiración en la obscuridad;* 3.ª *Estudio exacto del cociente respiratorio;* 4.ª *Respiración de las plantas, órganos, tejidos desprovistos de clorofila;* 5.ª *Teoría de la respiración;* 6.ª *Respiración intracelular o intramolecular* (es decir, respiración en una atmósfera desprovista de oxígeno); 7.ª *Presencia y papel de los ácidos en los vegetales.*

I

COMPROBACIÓN DEL FENÓMENO RESPIRATORIO EN LAS CONDICIONES HABITUALES

Se deben a Lavoisier las primeras nociones exactas relativas al fenómeno respiratorio en los animales. Pero, Saussure es quien, por primera vez, comprendió la importancia de la presencia del oxígeno en la atmósfera que rodea los vegetales; demostró que la función clorofiliana enmascara parcialmente los efectos del acto respiratorio, y que las diferentes especies de hojas exhalan cantidades diferentes de gas carbónico: las hojas delgadas, como las del roble, del castaño de Indias, suministran al respirar un volumen de gas carbónico inferior al volumen de oxígeno que han absorbido; las hojas gruesas, como las del *Cactus*, del *Sempervivum tectorum*, no dan sensiblemente gas carbónico después de la absorción de oxígeno. El sabio ginebrino insistió en la generalidad del fenómeno respiratorio en los seres vivos al escribir: «Cuando se examinan anatómicamente los vegetales y los animales, se yerra en su comparación; pero, cuando no se consideran más que sus grandes líneas fisiológicas, como la nutrición, las secreciones, la reproducción, la influencia del gas oxígeno o de la respiración en su existencia, sin tener en cuenta los medios con que se ejercen estas funciones, es preciso admitir una sorprendente analogía entre estos seres.»

A veces es difícil poner de manifiesto la existencia del fenómeno respiratorio, es decir, la exhalación del gas carbónico, en los vegetales que contienen clorofila y que están expuestos a la luz. De todas maneras, cuando ésta no es demasiado viva o, mejor aún, cuando el vegetal no recibe más que la luz solar indirecta, se puede comprobar fácilmente un desprendimiento de gas carbónico.

Para ello, Garreau (1850) se vale de una alargadera hinchada en su parte media y cuya extremidad superior está tapada con un tapón atravesado por una rama de planta verde. En el punto en que la parte ensanchada de la alargadera continúa por debajo en un tubo estrecho, graduado, sumergido en agua destilada, se pone una pequeña cápsula que contiene potasa cáustica. El experimento de Garreau fué hecho en la sombra y en tiempo sombrío. El oxígeno inspirado, y exhalado en parte, en forma de gas carbónico, es retenido por la potasa: se produce un vacío parcial, y el agua asciende en el tubo graduado. Como hace observar Garreau, la totalidad del gas carbónico que ha producido la rama verde no es absorbida por la potasa, porque la función de asimilación todavía se ejerce algo. Pero, no es menos cierto que se puede poner así de manifiesto la

inspiración del oxígeno durante el día, «sin ocuparse en las cantidades absolutas, cuyo límite varía, por lo demás, con variaciones poco notables de temperatura y siguiendo la disminución mayor o menor de la intensidad de la luz ordinaria del día».

Se puede también demostrar la existencia del acto respiratorio por medio de un experimento clásico de Corenwinder. Se ponen debajo de una campana los vegetales o las partes de los vegetales que se desean experimentar. Por la campana pasa una corriente de aire producida por un aspirador, aire desprovisto de gas carbónico por haber pasado a través de tubos en U que contienen piedra pómez impregnada de potasa y a través de un tubo de bolas con agua de barita (ésta no debe enturbiarse si los tubos en U que la preceden han retenido completamente el gas carbónico del aire). Al salir de la campana, el aire pasa por probetas que contienen agua de barita muy límpida. Si la planta ha respirado, el agua de barita se enturbia, y se forma poco a poco en el fondo de las dos últimas probetas un precipitado blanco de carbonato bárico.

Cuando se hace este experimento con plantas adultas bien iluminadas, el resultado frecuentemente es nulo: el agua de barita no se enturbia; pero, si se emplean ramas jóvenes, el agua de barita se enturbia siempre: lo que demuestra que el gas carbónico emitido por estas ramas es demasiado abundante para poder ser utilizado inmediatamente por la función clorofiliana. Si se opera con semillas en germinación, o simplemente en la sombra, el resultado es siempre positivo. En la obscuridad, es muy manifiesto, sobre todo si la temperatura es elevada.

Cuando se repite este experimento con una planta en maceta, es indispensable aislar el suelo en que vegeta la planta, porque la tierra emite siempre gas carbónico en mayor o menor cantidad. Se sujetará el tallo de la planta en una muesca en forma de U de una placa de hierro fundido. Se pone encima de esta placa otra placa igual con una muesca análoga, de modo que las dos muescas estén opuestas. Sobre esta segunda placa se aplica la campana, ajustándola por medio de mástico.

El experimento cualitativo de Corenwinder da resultados interesantes. En efecto, se pueden, según la naturaleza de la planta empleada, según su grado de desarrollo y según la cantidad de luz que recibe, obtener cantidades variables de gas carbónico y hasta no obtener nada de éste. La temperatura, según diremos más adelante, desempeña un papel capital en el fenómeno respiratorio; aumenta mucho el desprendimiento del gas carbónico. Inversamente, si la temperatura es baja, *aun durante la noche*, puede ocurrir que no se observe más que una producción insignificante, y aun nula, de este gas.

Nunca insistiremos demasiado en el hecho de que el desprendimiento del gas carbónico *no es más que la resultante de numerosos fenómenos de oxidación que es casi imposi-*

ble separar entre sí. En efecto, el oxígeno se dirige a unos compuestos y los quema enteramente; oxida incompletamente a otros sin desprendimiento correlativo de gas carbónico (transformación de los hidratos de carbono en ácidos orgánicos, oxidación de los albuminoides con producción de asparagina y amidas congéneres, oxidación de las materias grasas). El oxígeno se une también con el hidrógeno con eliminación de agua. Por último, muchos principios inmediatos sufren, en el curso de la vegetación, fenómenos de desdoblamiento, *sin absorción de oxígeno,* pero acompañados de un desprendimiento de gas carbónico. Esto es lo que se observa en la respiración intracelular, que conduce a un desdoblamiento de la glucosa en alcohol y ácido carbónico.

Función clorofiliana y respiración.—En las condiciones normales de iluminación, la función clorofiliana o de asimilación predomina siempre sobre la respiración, fenómeno de combustión acompañado de pérdida de peso del vegetal. Según Boussingault, una hoja bien iluminada descompone siempre mucho más gas carbónico del que desprende en la obscuridad. La diferencia es considerable. En los treinta y un experimentos hechos en los meses de mayo y octubre en atmósferas enriquecidas en gas carbónico, experimentos que duraban ocho horas, se encuentra que la misma superficie de hojas descompone en una hora, por término medio, veinte veces más gas carbónico que oxígeno absorbe. Si se supone que las mismas hojas funcionan uniformemente durante un tiempo determinado, se llega a la siguiente consecuencia: un metro cuadrado de superficie verde, que abarca los dos lados del limbo, descompondría, en doce horas de día, 6 336 centímetros cúbicos de gas carbónico, y produciría, en doce horas de noche, 396 cms. cúbicos del mismo gas, es decir, sólo 6 por 100 de la cantidad del gas absorbido durante el día.

El oxígeno puede ser absorbido completamente en una atmósfera limitada; resistencia a la asfixia.—Mientras que un animal que respira en una atmósfera limitada muere mucho antes de que la totalidad del oxígeno haya sido absorbida por él, la planta resiste mucho mejor en estas condiciones.

Esto ha sido fácil de comprobar en plantas acuáticas (*Elodoea, Potamogeton*) que se mantienen en la obscuridad. Se introducen algunas ramas de estas plantas en un matraz lleno de agua aireada y provisto de un tubo de desprendimiento. Al cabo de uno o dos días se calienta el matraz para expulsar los gases y se recogen éstos en la cuba de mercurio. El análisis de los gases demuestra la ausencia del oxígeno y la sola presencia de una mezcla de nitrógeno y ácido carbónico.

Un fenómeno análogo se presenta en algunos estanques en cuya superficie se forman en abundancia lentejas de agua: las plantas sumergidas, que se hallan así en la obscuridad—porque la luz verde que reciben equivale a la obscuridad, — absorben completamente el oxígeno disuelto. Como consecuencia de este hecho los peces, privados de oxígeno, mueren y van a parar a la superficie.

En cuanto a las plantas que viven y se desarrollan naturalmente en la sombra, o en condiciones de iluminación insuficiente (ciertas plantas que se tienen en habitaciones), respiran con poca actividad. La asimilación, aunque débil a la luz muy atenuada que reciben, basta, no solamente para restituirles las pérdidas que han experimentado por la respiración, sino que produce un excedente de compuestos carbonados que queda a su disposición.

Cuando la planta ha absorbido completamente el oxígeno de una atmósfera confinada, no muere inmediatamente; todavía resiste algún tiempo. Entonces se producen los fenómenos de *respiración intracelular,* de que hablaremos más adelante. La planta desprende gas carbónico procedente del desdoblamiento de ciertos principios hidrocarbonados; hay formación concomitante de alcohol, y se efectúa un verdadero fenómeno de *fermentación anaerobia.* Puesta de nuevo en las condiciones normales, si es que la vida sin aire no ha sido prolongada demasiado tiempo, la planta reanuda el curso de su vegetación.

II

RESPIRACIÓN EN LA OBSCURIDAD

Si se quieren conocer las leyes del fenómeno respiratorio, es del todo necesario observar el desprendimiento gaseoso fuera de la función clorofiliana o, dicho en otros términos, en la obscuridad. Aquí se presenta una dificultad. Si se mantiene demasiado tiempo una planta verde al abrigo de los

rayos solares, se puede temer la aparición de fenómenos anormales en ella. Por esto debe mantenerse la planta verde, o la parte de la planta con que se hace el experimento, durante un tiempo tan corto como sea posible (sólo algunas horas), en el medio obscuro y asegurarse, terminado el ensayo, de que la planta no ha sufrido alteración. Se puede reconocer la ausencia de todo estado patológico por la persistencia de la coloración verde inicial sin aparición de manchas pardas, por ejemplo, en las hojas, y por el hecho de que la planta, o la parte de la planta, expuesta de nuevo a la luz, vuelve a desprender, en una atmósfera limitada que contenga una cantidad conocida de gas carbónico, el mismo volumen de oxígeno en un tiempo determinado, y a una temperatura dada, que la misma planta antes de su exposición en la obscuridad.

Para efectuar estos ensayos con toda seguridad, es preciso elegir de antemano la planta. En efecto, muchos vegetales son poco a propósito para esta clase de investigaciones: es, pues, necesario hacer respecto de este punto un estudio preliminar como cuando se trata de separar la función clorofiliana de la respiración por medio de los anestésicos (pág. 68).

Influencia de la temperatura en la respiración. — El factor *temperatura* desempeña un papel capital en los fenómenos respiratorios, cualquiera que sea la naturaleza del órgano considerado. A propósito de la asimilación del carbono, hemos visto que la influencia de la temperatura era real y que la curva que representa gráficamente este fenómeno subía rápidamente a partir de las temperaturas bajas (a veces debajo de 0°), alcanzaba un máximo a un os 15° ó 20°, permanecía horizontal durante una veintena de grados y descendía en seguida hasta la muerte del vegetal (45° a 55°). La curva respiratoria es muy diferente de esta última, según vamos a ver.

Dehérain y Moissan (1874), para estudiar la influencia de la temperatura en la respiración, emplean una disposición que permite mantener las hojas con que se opera, ya sea en la misma atmósfera mientras dura el ensayo, ya sea en una atmósfera continuamente renovada mediante una corriente continua de gas. Se determina la cantidad de ácido carbónico

desprendido por medio de los procedimientos ordinarios. Los experimentos hechos a temperaturas elevadas deben ser de corta duración.

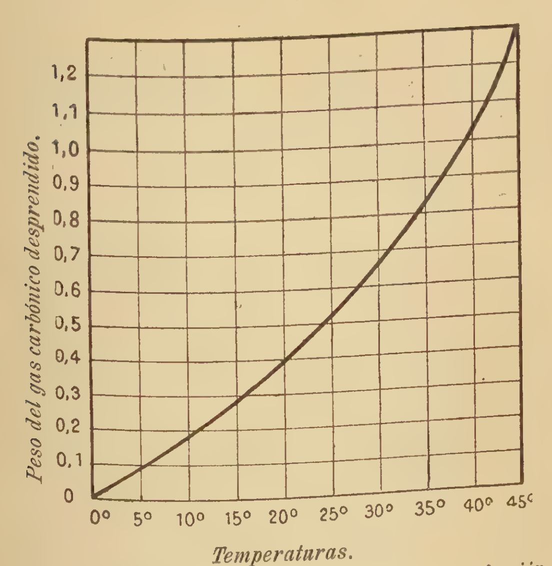


Fig. 9.—Curva del desprendimiento del gas carbónico en función de la temperatura (hojas de tabaco).

He aquí algunos resultados que indican la cantidad de ácido carbónico formado en diez horas por 100 gr. de hojas:

	Temperaturas	CO^2 gr.
Hojas de tabaco.	7°	0,031
	13°	0,139
	14°	0,157
	15°	0,164
	18°	0,178
	20°	0,263
	21°	0,289
	32°	0,514
	40°	0,961
	41°	1,132
	42°	1,325

	Temperaturas	CO^2 gr.
Hojas aciculares del *Pinus pinaster*.	0°	0,031
	8°	0.058
	15°	0,095
	30°	0,703
	40°	1,333

La temperatura desempeña, pues, un papel capital en el fenómeno respiratorio. La cantidad de gas carbónico desprendido crece regularmente con la temperatura. *No existe óptimo de temperatura* para la respiración: ésta no cesa hasta que el órgano considerado ha muerto.

La curva de la respiración es, pues, totalmente diferente de la de asimilación. Arranca de bajas temperaturas (a veces debajo de 0°); sube rápidamente afectando una forma cóncava del lado del eje de las ordenadas, como enseña la figura adjunta (fig. 9).

La ley con que varía la cantidad del gas carbónico exhalado a diversas temperaturas está representada por una fórmula parabólica, cualquiera que sea el modo de respiración de la planta y cualquiera que sea su familia (de Fauconpret, 1864).

Gran número de semillas en germinación desprenden, por debajo de 0°, notables cantidades de gas carbónico (Kreusler, Ziegenbein).

La cantidad de gas carbónico desprendido varía mucho con la naturaleza del órgano y, sobre todo, con su grado de vitalidad. Las hojas amarillas, por ejemplo, respiran mucho menos activamente que las hojas sanas. Todo órgano debilitado se halla en el mismo caso con relación al órgano en buen estado.

Cuando se comparan las cifras obtenidas en presencia de oxígeno puro con las que proporciona simplemente el aire, no se encuentran diferencias sensibles.

Acción de las alternativas de temperatura en la respiración.—Palladin (1899) había dicho ya que la intensidad respiratoria varía de un modo considerable a la *misma temperatura* si las plantas sometidas al experimento han sido expuestas anteriormente durante muchos días a temperaturas extremas, muy diferentes de la temperatura a que se efectúan las mediciones. Pero, según Blanc (1912), las variaciones bruscas de temperatura no determinan ninguna excitación de la respiración. Entre la actividad respiratoria correspondiente a una temperatura dada y la que corresponde a una temperatura diferente, el tránsito se efectúa gradualmente, y se observan todas las actividades respiratorias intermedias entre las de las temperaturas extremas.

Respiración de los diversos órganos. — He aquí algunas observaciones generales sobre este asunto. El desprendimiento del gas carbónico depende de la naturaleza del órgano y de su grado de desarrollo. Moissan (1879) ha demostrado que, en el *castaño,* la cantidad de gas carbónico exhalado es máxima en el momento en que se abren las yemas. Según este mismo autor, la respiración de los pétalos es más activa que la de las hojas.

La influencia de la *especie* desempeña un papel importante: esto es lo que resulta de la siguiente tabla, en la cual la respiración ha sido observada a la temperatura de 14° en hojas de varias especies:

	CO^2 producido en 10 horas por 100 gramos de hojas
	gr.
Sinapis alba	0,240
Ficus elastica	0,011
Rumex acetosa	0,159
Pinus pinaster	0,095

Las hojas perennes, en igualdad de circunstancias, desprenden menos gas carbónico que las hojas caducas.

Cuanto más activa es la vegetación de un órgano, mayor es su intensidad respiratoria. Cuantos más estomas contiene el órgano considerado, más abundante es el desprendimiento gaseoso.

En general, los órganos encargados de la función asimiladora son los que presentan mayor intensidad respiratoria. La intensidad respiratoria del limbo, comparada con la del pecíolo, es mucho más elevada. Los filodios y los cladodios, en ausencia de hojas, siguen la misma ley. Entre el tallo y el pecíolo, bajo este concepto hay poca diferencia; a veces ésta es considerable. Los órganos encargados esencialmente de la función asimiladora son los que tienen el cociente respiratorio menos elevado (Nicolas, 1907).

Variaciones del cociente respiratorio.—Más adelante expondremos los pormenores necesarios respecto de este asunto. Diremos ahora solamente, como primera aproximación, que, en los experimentos de corta duración, se encuentra bastante a menudo, a bajas temperaturas, más oxígeno consumido que gas carbónico emitido. Demuestra esto que el gas carbónico no es el único producto de oxidación que se forma en los tejidos a causa de la absorción de oxígeno. Este puede quemar al hidrógeno y formar, por consiguiente, agua; además, se une con ciertos hidratos de carbono, transformándolos en ácidos, por ejemplo en ácido oxálico:

$$C^6H^{12}O^6 + O^9 = 3\ C^2H^2O^4 + 3\ H^2O.$$

Todas estas causas reunidas conducen a un cociente respiratorio inferior a la unidad. No ocurre lo mismo, en general, a temperatura elevada: el cociente respiratorio pasa a ser entonces casi siempre superior a la unidad.

Variaciones de la respiración con el desarrollo.— Según Bonnier y Mangin (1885), los valores de la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ durante la respiración de una especie determinada no son los mismos en los diferentes estados del desarrollo. Estos valores pasan por un máximo que subsiste durante el verano y por un mínimo observado durante el invierno.

III

ESTUDIO EXACTO DEL COCIENTE RESPIRATORIO

Método del vacío; método de compensación.— Según ya hemos observado a propósito del estudio de la función clorofiliana (pág. 71), es indispensable, cada vez que se trata de apreciar el valor exacto de los cambios de gases que se efectúan entre un órgano y la atmósfera exterior, conocer de un modo preciso, en el estado inicial y en el estado final, el volumen total: 1.°, de los gases que rodean el órgano; 2.°, de los gases que están disueltos en el parénquima de este órgano. Esta precaución es capital en el estudio de la respiración, porque el ácido carbónico es incomparablemente más soluble en el agua que el oxígeno. Se puede llegar a un grado de precisión suficiente, en la mayoría de los casos, con el empleo del *método del vacío*, usado por Dehérain y Maquenne (1885) en sus primeros experimentos sobre la respiración.

Para ello, se emplea un tubito de 15 cm. de longitud y 2 cm. de diámetro (fig. 10), provisto en uno de sus extremos de una llave, y obturado el otro extremo por una placa de vidrio o por un tapón de vidrio bien esmerilado. Se mantendrá este tubo a una temperatura constante mientras dure

el ensayo. Después de haber introducido en él los órganos que deben ensayarse, se hace el vacío en el aparato por medio de la trompa de mercurio y se extraen así, sin medirlos, los gases contenidos en el tubo, como también los condensados o disueltos en el órgano. Después de haber dejado entrar aire bien exento de gas carbónico, se cierra la llave y se hace el vacío en los espacios perjudiciales de la trompa. Luego se abre la llave y, continuando haciendo el vacío tan perfecto como sea posible, se recogen todos los gases que se desprenden y se miden con gran precisión. Por último, se deja entrar aire como antes, y se cierra la llave. El volumen inicial de los gases que van a participar en la reacción es, pues, bien conocido. Si no se trata más que de determinar el valor de la relación $\frac{CO^2}{O^2}$, la medición exacta del volumen gaseoso es inútil.

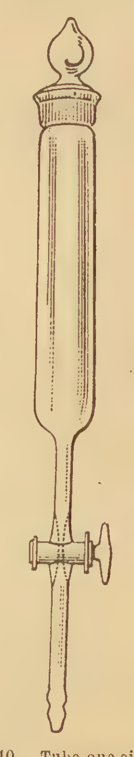


Fig. 10.—Tubo que sirve para el estudio de la respiración.

Al cabo de algunas horas de estar el aparato en la obscuridad, cuando se cree que el experimento ha durado bastante, se enlaza nuevamente el tubo de llave con la trompa de mercurio; se vacian los espacios perjudiciales, luego se abre la llave, y se recogen los gases como al principio, haciendo un vacío lo más perfecto que se pueda. Después de la medición, el volumen final queda, pues, tan exactamente conocido como el volumen inicial.

La determinación del oxígeno desaparecido y la del gas carbónico formado permiten calcular el cociente $\frac{CO^2}{O^2}$. Dehérain y Maquenne, operando con este método, han encontrado siempre un cociente más elevado que el que se calcula

mediante el solo análisis de los gases que rodean el órgano, sin tener en cuenta la atmósfera interna del mismo.

Para demostrar de una manera irrefutable que esta atmósfera interna o confinada desempeña un papel muy importante en la evaluación del cociente $\frac{CO^2}{O^2}$, Dehérain y Maquenne han recurrido al siguiente procedimiento, que ellos llaman *método de las dos tomas*. En el momento de hacer el análisis del contenido del tubo en que han respirado las hojas, se enlaza este tubo con la trompa de mercurio; se hace el vacío en todos los espacios perjudiciales, luego se abre la llave del tubo del experimento, y en seguida se vuelve a cerrar. Se recoge así una pequeña cantidad de gas que representa sólo una fracción de la *atmósfera exterior* que rodea las hojas, y se analiza este gas. Luego se hace un vacío tan perfecto como se pueda, y se extrae esta vez la totalidad del gas, que también se analiza. La primera muestra de gas contiene, pues, una parte de la atmósfera exterior, mientras que la segunda contiene el resto de esta atmósfera y además los gases confinados o disueltos que solamente puede extraer la acción del vacío.

Calculando la relación $\frac{CO^2}{O^2}$, se obtienen los siguientes resultados relativos a las hojas de *bonetero:*

Temp. durante el experimento $= 35°$. $\begin{cases} 1.^a \text{ toma de gas } \frac{CO^2}{O^2} = 1{,}06 \\ 2.^a \quad — \quad \frac{CO^2}{O^2} = 1{,}42 \end{cases}$

Temp. durante el experimento $= 0°$. $\begin{cases} 1.^a \text{ toma de gas } \frac{CO^2}{O^2} = 0{,}67 \\ 2.^a \quad — \quad \frac{CO^2}{O^2} = 1{,}00 \end{cases}$

De este experimento los autores deducen que, si las dos tomas diesen resultados idénticos, debería admitirse que la atmósfera interior de los órganos sometidos al ensayo tiene la misma composición que la atmósfera exterior. Pero, puesto

que la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ es mayor en el caso de la segunda toma que en el caso de la primera, es evidente que esta relación está modificada por la disolución del gas carbónico en los líquidos de las hojas.

Así, pues, el cociente respiratorio puede ser *mayor que la unidad,* sobre todo a temperatura elevada: el exceso de gas carbónico procede de combustiones internas o de desdoblamientos, como diremos próximamente.

Para corroborar sus conclusiones han empleado un tercer método llamado *método de compensación,* cuyo principio es el siguiente. Se toman hojas y se introducen en un cilindro de vidrio de 370 cm.^{3} de cabida, terminado en uno de sus extremos por un tubo capilar que se puede cerrar cuando se hace el experimento y cerrado el otro extremo por un tapón de vidrio esmerilado provisto de una llave que se enlaza con la trompa de mercurio. Cuando las hojas han respirado a temperatura invariable, se toma, al cabo de cierto tiempo, una muestra de gas, y se repite esta operación a intervalos iguales, teniendo cuidado, cada vez, de restablecer la presión inicial mediante la introducción de aire puro.

En estas condiciones, a temperatura fija, las hojas *se saturan pronto de los gases del ambiente;* el error debido a la absorción del gas carbónico se atenúa poco a poco, y se ve que la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ crece regularmente con el número de tomas de muestras hasta un máximo fijo que representa su valor real. En estas condiciones, el equilibrio no es perturbado ya por la disolución de los gases en el agua.

El método del vacío y el método por compensación dan los mismos resultados; conducen a cocientes superiores a la unidad que generalmente son tanto mayores cuanto más elevada es la temperatura.

Se comprende, pues, fácilmente por qué el *método del aire confinado* en el cual se encierran los órganos en un recipiente de cualquiera capacidad, donde el aire se enriquece continuamente en gas carbónico, no puede dar, en el estudio de la respiración, más que resultados comparativos, valede-

ros solamente en el caso en que se mantengan constantes la temperatura y la *densidad de carga* (relación entre el volumen del órgano estudiado y el volumen del espacio gaseoso que se le ofrece). Pero, este método, tan frecuentemente empleado todavía, *no da más que cocientes aparentes*. Si la densidad de carga es muy débil, el cociente aparente se aproximará mucho evidentemente al cociente real.

Esto es lo que resulta, por lo demás, de la siguiente fórmula, indicada por Maquenne y Demoussy, fórmula que enseña las relaciones existentes entre el cociente respiratorio real m y el cociente aparente μ, en función de la *densidad de carga* δ y del coeficiente c de absorción del gas carbónico por las hojas, cuyo peso específico se supone igual al del agua:

$$\mu = m \frac{1 - \delta}{1 - \delta + c\delta}.$$

En lo que concierne a la solubilidad del gas carbónico en los líquidos normales de la hoja, Maquenne y Demoussy han demostrado que el coeficiente de absorción de este gas es, a cualquier temperatura, y respecto de las especies que han estudiado, aproximadamente doble, en números redondos, del propio del mismo gas en el agua pura.

Método de desalojamiento. — En su importante y reciente obra (1913) *sur les échanges gazeux des plantes vertes avec l'atmosphère*, Maquenne y Demoussy, de quienes tomaremos los pormenores que vamos a exponer, han sometido a una severa crítica los procedimientos empleados antes de ellos para la determinación del cociente respiratorio.

El método del vacío, tal como acabamos de describirlo, da buenos resultados siempre que los cambios de gases entre el vegetal y la planta son rápidos. En efecto, en un espacio cerrado como es el que contiene las hojas, el vacío que se produce tiene por límite la tensión del vapor de agua que lo

satura. Cuando la trompa ya no extrae gas, el jugo celular, si la difusión es lenta, permanece saturado de gas carbónico a una presión de unos quince milímetros de mercurio: de donde un déficit tanto mayor cuanto menos permeable es la masa vegetal. Resulta de esto que el método del vacío da resultados demasiado pequeños que, en realidad, se acercan tanto más a la verdad cuanto más fácilmente se hagan los cambios de gases, pero que se alejarán mucho de ella cuando estos cambios son difíciles, como ocurre en el caso de los órganos carnosos.

Por esto, Maquenne y Demoussy proceden por un método nuevo llamado *de desalojamiento,* que es una combinación del método de compensación (véase antes) con el de la corriente continua de gases.

Para ello, se hace pasar una corriente de aire a través de un tubo que contiene hojas, con una velocidad constante, y con bastante lentitud para que el gas que se desprende pueda ser analizado con precisión; contiene el gas de 2,5 a 3 por 100 de gas carbónico. Al principio, el gas que se desprende presenta una composición anormal, como en el método del aire confinado. Pero pronto, cuando se desprende tanto ácido carbónico como se forma, se establece, entre las hojas y la atmósfera que las rodea, un régimen de equilibrio que sigue sin variar mientras la intensidad respiratoria y la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ se mantienen constantes. El gas desprendido presenta entonces una composición fija que corresponde a la del aire modificado por el efecto real de la respiración y basta analizar este gas.

Si se opera con hojas jóvenes, fácilmente permeables a los gases, los resultados que da el método de desalojamiento o los que da el del vacío son concordantes. Pero, cuando se trata de órganos en los cuales los cambios de gases son lentos, el método del vacío da cifras de gas carbónico inferiores a las del método de desalojamiento: el cociente respiratorio es, pues, menor y no tiene ningún carácter de precisión. Resulta de esto que este último método es el único que puede emplearse en el

caso de las hojas carnosas, de la madera, de los tallos, de las semillas germinadas. Citaremos, respecto de este punto, algunas cifras obtenidas a 25°:

Hojas muy permeables	Vacío	Desalojamiento	Hojas poco permeables	Vacío	Desalojamiento
Aucuba (marzo) .	1,14	1,15	*Aucuba* (junio) .	1,01	1,09
Col (abril). . .	1,05	1,04	Ailanto (junio) .	1,01	1,14
Bonetero (marzo)	1,07	1,08	*Aspidistra* (febr.)	0,84	0,94
Hiedra (marzo) .	1,10	1,08	*Crassula* (enero)	0,74	0,92
Guisante (marzo).	1,03	1,04	Castaño (julio) .	0,89	0,97
Ligustro (junio) .	1,07	1,05	Ruibarbo (abril .	0,97	1,01

Disminución progresiva del cociente respiratorio en un órgano separado de la planta. — Entre los hechos importantes dados a conocer por Maquenne y Demoussy, debe citarse el siguiente, que nunca se había tenido en cuenta antes de sus investigaciones, y que ha sido la causa de numerosos errores.

En un órgano recién cortado se observa una disminución muy rápida del cociente respiratorio, que se manifiesta en un tiempo muy corto (de hora a hora y media) respecto de las plantas que aun no han alcanzado su máximo de actividad asimiladora. Si las hojas, durante su exposición en la cámara obscura, se adhieren todavía a la planta, la disminución es menos rápida; pasa a ser inapreciable durante unas diez horas si se mantiene la rama en la obscuridad unida al tronco, o cuando se toman las hojas de una planta privada de la luz durante el mismo tiempo en todas sus partes. Si la planta respira lentamente (*Aspidistra,* plantas carnosas durante el invierno) y, por consiguiente, consume poco, se agotará menos pronto. Se trata, pues, aquí de un *agotamiento continuo* del medio en principios combustibles, agotamiento que será más acentuado en una planta de respiración activa (órganos jóvenes) que en una planta que respira lentamente. Como la respiración es menos intensa a baja temperatura, el cociente respiratorio conservará mayor tiempo su valor. Esta substancia combustible, por lo demás muy poco abundante, está almacenada en los tejidos desprovistos de clorofila; porque las hojas se agotan menos aprisa cuando están adheridas todavía al tallo que cuando han sido separadas de él. La substancia respiratoria en cuestión se regenera fácilmente a la luz, y por esto es fácil observar que el cociente $\frac{CO^2}{O^2}$ crece al cabo de algunas horas de iluminación.

Resulta de lo que precede que, cuando se trate de determinar el cociente respiratorio en un órgano separado, deberá tomarse éste de una planta en estado de equilibrio en todas sus partes, y operar

rápidamente y a una temperatura próxima a la que tenía en el momento en que fué separado.

Cociente respiratorio verdadero de las plantas verdes.—He aquí una tabla que expresa los valores del cociente respiratorio $\frac{CO^2}{O^2}$ de algunas plantas verdes. Los experimentos han sido hechos a 25° durante el período de la vegetación activa, ya por el método del desalojamiento, ya por el método del vacío, con las salvedades correspondientes a este último y que hemos expuesto antes.

Ailanto	1,08	Habichuela joven	1,12
— (otoño)	0,95	— fructificada	0,97
Aspidistra	0,94	Brusco	1,10
Aucuba	1,11	Laurel rosa	1,05
Begonia	1,11	Hiedra	1,08
Remolacha	1,03	Lila	1,07
Trigo (antes de florecer)	1,03	Mahonia (otoño)	0,95
Trigo (junio)	0,95	Acedera	1,04
Dalia	1,07	Guisante	1,07
Bonetero	1,08	Tabaco	1,03

Resulta de la inspección de estas cifras que, en las plantas jóvenes, *el cociente respiratorio es casi siempre superior a la unidad*. Ocurre lo contrario en el *Aspidistra*, especie notable por su débil actividad respiratoria, lo mismo que en las plantas ensayadas en otoño. Estos valores son siempre mayores que los que diversos autores han obtenido operando generalmente por el método incorrecto del aire confinado. La tabla anterior enseña, además, que, en una misma planta, el cociente disminuye con la edad, de la misma manera que disminuye en una hoja conservada en la obscuridad (véase antes). Al fin de la vegetación este cociente alcanza un valor inferior a la unidad, a causa de un verdadero agotamiento.

Maquenne y Demoussy formulan la siguiente ley: *el cociente respiratorio de las plantas verdes es mayor que la unidad mientras dura su vegetación activa; su decrecimiento y, sobre todo, su disminución por debajo de la unidad indican una degeneración.*

Todo órgano que se oxida está afectado de senilidad, estando agotadas sus materias combustibles.

Los hechos precedentes comportan una consecuencia muy importante. Puesto que el cociente respiratorio es mayor que la unidad, todas las plantas deben contener, según el análisis elemental, un exceso de hidrógeno con respecto a los elementos del agua. Es éste un hecho absolutamente general, al cual aludimos ya (pág. 86) a propósito de la descomposición del agua en la célula clorofiliana. Un simple cálculo demuestra que basta que el cociente respiratorio sea muy ligeramente superior a la unidad (1,02 a 1,03) para explicar el exceso de hidrógeno. Añadamos, para terminar, que el cociente respiratorio aumenta, en general, con la temperatura.

Empleo del manómetro en el estudio de la respiración.—La mayoría de los autores que han determinado el valor del cociente respiratorio han empleado el método del aire confinado. Entre las pruebas destinadas a poner de manifiesto que este cociente es normalmente inferior a la unidad (es decir, que el volumen de oxígeno absorbido es superior al del gas carbónico desprendido), estos autores invocaban el hecho siguiente: la presión leída en un manómetro en comunicación con el recipiente que contiene las hojas siempre es inferior a la presión atmosférica. Realmente es esto lo que ocurre. Pero, Maquenne y Demoussy han demostrado, por el cálculo y experimentalmente, que no siempre es así. Teniendo en cuenta la solubilidad del gas carbónico en el agua de las hojas, el cálculo indica que las variaciones del manómetro dependen, no solamente del valor del cociente respiratorio real, sino también, y mucho, de la densidad de carga: es fácil deducir esto de la fórmula antes expuesta (pág. 370).

En efecto, las hojas que tienen un cociente muy superior a la unidad pueden determinar una disminución de presión; el manómetro indicará el cociente *aparente*. Calculando, en función de la densidad de carga, los valores de este cociente aparente, se encuentra que éste primero crece, después baja rápidamente y que es superior a la unidad (como se comprende, cuando el cociente real también lo es) para ciertos valores de δ, próximos por término medio a 0,02. Todos los experimentos confirman estas previsiones. Los autores han podido determinar por adelantado las condiciones en que es necesario situarse para observar una subida o una bajada del manómetro. Es necesario, naturalmente, operar con hojas frescas, porque a menudo hay un rápido decrecimiento del cociente real.

Existe aquí una notable concordancia entre los datos de un

cálculo fundado en fenómenos de orden físico y los experimentos hechos con un ser vivo.

Este método manométrico no puede servir para determinar el valor del cociente respiratorio real; indica solamente su sentido.

Influencia de las anteriores condiciones en el valor del cociente respiratorio en las hojas verdes. — Ocurre, a veces, aun operando con hojas delgadas, que se observa, por ejemplo a 25°, un cociente respiratorio más elevado en una planta que ha sido mantenida durante algún tiempo en la obscuridad que en otra análoga que momentos antes estaba a plena luz. Este nuevo dato no parece que pueda ponerse de acuerdo con las observaciones relativas a la disminución progresiva del cociente respiratorio en un órgano separado de la planta (pág. 372), disminución atribuíble al agotamiento de las hojas.

Parece que, para estas especies *anormales*, el efecto de la luz sea disminuir progresivamente la relación $\frac{CO^2}{O^2}$, mientras que la obscuridad vuelve esta relación a su valor primitivo: las temperaturas bajas son, en este concepto, más eficaces que las altas. Los números que se obtienen dependen del estado anterior en que se hallaba el órgano estudiado antes del experimento. Maquenne y Demoussy expresan este hecho diciendo que estas especies son *sensibles a las condiciones anteriores*. He aquí algunos ejemplos:

	Temperaturas de observación	$\frac{CO^2}{O^2}$
Acedera (abril-julio)		
Hojas recolectadas después de medio día al sol.	25°	0,95 a 0,98
Planta mantenida 2 horas en la obscuridad. .	25°	1,04
— 16 — . . .	25°	1,04
Hojas conservadas 2 — . .	25°	1,06
Sedum (julio)		
Recolectado a las 3 horas al sol	25°	0,78 a 0,86
— en tiempo nublado .	25°	1,16
Después de 15 horas de obscuridad a 16° . .	25°	1,17
— 20 — 30° . .	25°	1,03
Brusco (julio)		
Hojas recolectadas a las 9 de la mañana . .	25°	1,37
— 11 — al sol . . .	25°	0,92
— 3 — — . . .	25°	0,01 a 0,02
Después de 16 h. de obscuridad (planta entera).	25°	1,32 a 1,68

Estas anomalías, que se refieren a hojas en las cuales los cambios de gases son difíciles, pueden explicarse suponiendo que la res-

piración en estas hojas se efectúa en dos fases sucesivas que conducen: la primera, a una producción de ácidos fijos que resulta de una oxidación incompleta procedente de la lentitud con que penetra el oxígeno en el órgano; la segunda, a una combustión de estos mismos ácidos que sigue a la de los principios acidificables cuando éstos se han agotado. Según esta hipótesis, si se transporta a la obscuridad un órgano verde que se ha cargado por asimilación clorofiliana de hidratos de carbono y que en parte se ha desacidificado por la acción del calor solar, los hidratos de carbono, más alterables y más abundantes que los ácidos, serán los primeros en oxidarse formando una nueva cantidad de ácidos fijos y dando un débil desprendimiento de gas carbónico: el cociente respiratorio será pequeño. Entonces, a la vez, la reserva de hidratos de carbono disminuye y pronto llega a ser insuficiente para mantener la respiración con su intensidad normal. Por esto, los ácidos, que han pasado a ser predominantes, se queman a su vez, y en proporciones crecientes, a medida que progresa el agotamiento de los hidratos de carbono. El cociente respiratorio entonces crece y tiende al límite, muy superior a la unidad, que corresponde a la combustión total de los ácidos orgánicos fijos. Cuando se lleva la planta al sol, su temperatura se eleva; la formación de los ácidos se detiene, y los que la hoja contiene se destruyen haciendo sitio, por efecto de la función clorofiliana, a nuevos hidratos de carbono cuya combustión consume más oxígeno: el cociente respiratorio baja. Teóricamente, debería tender a la unidad; sin embargo, se le ve descender casi hasta cero.

Entonces es cuando es necesario hacer intervenir dos nuevas influencias: la del gas carbónico que, disuelto en el jugo celular, debe incluirse entre los componentes orgánicos con la misma razón que los ácidos fijos, y la de la temperatura, que actúa a la vez en la acidificación y en el coeficiente de absorción de la hoja respecto del gas carbónico. En efecto, ciertas especies son particularmente sensibles a la acción del calor que, en general, hace crecer el cociente respiratorio, según han demostrado Dehérain y Maquenne (pág. 368). Aubert (1892) ha observado el mismo fenómeno en las plantas carnosas. Una hoja de brusco, recolectada al anochecer en verano, tenía a 17° un cociente respiratorio igual a 0,17; a 40°, el cociente subió a 0,60: lo que supone un valor cercano a 1 a 45°, temperatura que puede alcanzar la hoja en pleno sol. El pequeño valor encontrado a 17° es una consecuencia de la formación de los ácidos que la disminución de la temperatura favorece. Pero, además, el coeficiente de absorción del gas carbónico sube cuando la hoja se enfría y, como no contiene indicios de este gas cuando se la transporta de la luz a la obscuridad, retiene el que se forma hasta que ha adquirido un grado de sobresaturación que le permite dejarlo desprender. Así, en las hojas de cambios lentos, el cociente respiratorio puede ser igual a 0°.

IV

RESPIRACIÓN DE LAS PLANTAS, ÓRGANOS, TEJIDOS DESPROVISTOS DE CLOROFILA

A. **Respiración de las raíces.**—Como todo órgano vivo, la raíz no puede prescindir de la presencia del oxígeno. Pero, si el suelo en que se desarrolla es demasiado compacto o demasiado húmedo, los gases de la atmósfera circulan mal, y el oxígeno puede faltar. Además, en todos los suelos, sobre todo en los ricos en humus, se efectúan innumerables fermentaciones que desprenden gas carbónico. Cuanto mayor es la cantidad de éste, aun cuando exista oxígeno en contacto con la raíz, más difícilmente se realiza el fenómeno respiratorio en ella. En semejantes condiciones a menudo hay *asfixia:* lo que se manifiesta por abrirse lentamente las yemas en la primavera y por la descoloración, y luego la caída prematura de las hojas en otoño. Basta recordar respecto de este tema las malas condiciones en que se desarrollan la mayoría de los árboles de las ciudades, sobre todo cuando estan arraigados en los suelos de mediocre calidad de nuestros paseos, donde sus órganos subterráneos están, además, en contacto con gases deletéreos procedentes de los escapes de las conducciones de gas del alumbrado.

Cuando las raíces están en presencia de una atmósfera suficientemente oxigenada, el cociente respiratorio $\frac{CO}{O^2}$ es siempre inferior a la unidad.

La respiración de las raíces presenta una interesante particularidad, observada por Saikiewicz (1881). La energía de esta respiración no es constante; aumenta de día y disminuye de noche, independientemente de la temperatura. Si se transporta una planta del aire libre a una cámara donde no reciba más que la luz difusa, la cantidad del gas carbónico desprendido por sus raíces disminuye poco a poco. Lo inverso ocurre cuando la planta, expuesta en una cámara, es llevada al aire

libre. Existe una especie de *periodicidad diurna* en el máximo respiratorio. Esta periodicidad parece ser una consecuencia natural de la producción, también periódica, de los hidratos de carbono en los órganos verdes.

Las raíces pueden luchar contra la asfixia.— En el tratamiento de las cepas contra la filoxera, un procedimiento recomendado para la destrucción de este insecto es el de la *sumersión*: se mantienen debajo de agua las tierras plantadas de viñas durante treinta a sesenta días consecutivos.

Si se inmergen las cepas en agua contenida en frascos bien tapados, la planta no tarda en morir. Si esta agua es atravesada por una corriente de aire, la planta se desarrolla normalmente. Cuando al agua se añaden pequeñas cantidades de nitratos, las cepas pueden permanecer en ella largo tiempo sin perjuicio. La presencia de los nitratos es, pues, capaz de oponerse a la asfixia de las raíces privadas de aire.

En las condiciones ordinarias de las tierras sumergidas, los nitratos son reducidos con formación de *óxido nitroso* N^2O (Dehérain y Maquenne). Si se hace pasar una corriente de este último gas por el agua donde estan inmergidas las raíces de las cepas, la planta no muere. Müntz, por otra parte, ha demostrado que las raíces de las cepas se apoderan directamente de los nitratos de los cuales probablemente pueden tomar oxígeno, y se comprende cómo, a pesar de las defectuosas condiciones a que las somete la sumersión, las cepas no mueren en un suelo privado de oxígeno libre, pero que contiene cantidades más o menos considerables de nitratos.

B. **Respiración de los hongos.**—El estudio de la respiración de los hongos ha sido hecho por Bonnier y Mangin (1883). En el método del aire confinado el vegetal respira en un espacio limitado. Si el experimento se prolonga, la respiración normal cesa; es reemplazada entonces por la respiración *intramolecular*. No deben tenerse en cuenta más que los experimentos en los cuales el vegetal está en una atmósfera que siempre contiene oxígeno. Durante la respiración *normal* de los hongos, el cociente $\frac{CO^2}{O^2}$ siempre es menor que la unidad y es independiente de la presión y de la temperatura.

Hemos hecho antes la crítica del método del aire confinado; en el caso actual la relación observada es ciertamente muy pequeña por las razones ya expuestas.

C. **Respiración de las semillas.**—Hemos visto, a propósito de la germinación, cuál era el conjunto de las condiciones indispensables para la realización de este fenómeno.

Tan pronto como la semilla está hinchada por el agua en el seno de una atmósfera oxigenada, absorbe oxígeno y expele gas carbónico; por consiguiente, pierde cierta cantidad de su peso inicial.

Como regla absolutamente general puede decirse que con su escasa proporción de agua normal (8 a 15 por 100), la semilla respira poco. A medida que la proporción de agua aumenta, a causa de la inmersión de la semilla en este líquido, la respiración aumenta hasta llegar a ser muchos centenares de veces mayor, sobre todo si la temperatura sube.

Se podría estudiar de una manera correcta la respiración de las semillas empleando el método del vacío y usando el tubito de llave antes descrito (pág. 366). Pero, según los trabajos de Maquenne y Demoussy, el método del vacío sería, sin embargo, imperfecto a causa del grueso de la mayoría de las semillas y, por consiguiente, de la dificultad de los cambios de gases.

Godlewski (1884), a quien se debe un excelente trabajo sobre la respiración de las semillas, ha estudiado el fenómeno absorbiendo el gas carbónico a medida que va desprendiéndose. Como la cantidad de este gas que se disuelve en el agua que impregna las semillas es función de la presión que tiene en la atmósfera exterior, es evidente que, anulando en cada momento esta presión mediante una absorción continua, la proporción del gas que permanece disuelta será sensiblemente nula. Mayer y Wolkoff (1875) habían procedido anteriormente de un modo análogo.

Sin embargo, es conveniente observar que cierta proporción de gas carbónico, imposible de apreciar, debe subsistir en el órgano a causa de su espesor: de donde una evaluación del cociente $\frac{CO^2}{O^2}$ inferior a la realidad.

Sea lo que fuere, he aquí una breve descripción del aparato empleado por Godlewski.

Se emplea un matraz de vidrio de 400 cm. cúbicos de cabida aproximadamente, cuya boca está tapada por un tapón atravesado por dos tubos doblados en ángulo recto, y cuyo extremo libre está inmergido en una pequeña cuba de mercurio. Está unido al tapón un vasito que contiene una solución de potasa. Se introducen en el matraz semillas y un poco de agua. Se tapa el matraz con el tapón provisto de un tubo

manométrico, y se procede al experimento manteniendo el aparato a una temperatura determinada.

Al respirar las semillas exhalan gas carbónico, disuelto en seguida por la solución de potasa. Se produce un vacío parcial y el mercurio asciende en la rama vertical del tubo manométrico. La disminución del volumen gaseoso de la atmósfera del matraz puede ser fácilmente calculada midiendo con un catetómetro la ascensión del mercurio. Por otra parte, basta determinar el gas carbónico disuelto en la potasa para conocer cuál es la cantidad de este gas desprendida en el acto respiratorio. Se tienen, pues, todos los elementos necesarios para una evaluación de la relación existente, a una temperatura determinada, entre el oxígeno absorbido y el ácido carbónico exhalado, suponiendo invariable el volumen del nitrógeno, lo cual es aproximadamente verdad.

Respiración de las semillas que contienen materias grasas.—El aparato anterior ha servido a Godlewski para medir el cociente respiratorio de semillas de variado contenido (semillas grasas, semillas amiláceas, semillas mixtas). Principiemos por el estudio de las semillas grasas.

De Saussure había demostrado que éstas desprenden, durante su germinación, un volumen de gas carbónico inferior al volumen de oxígeno que absorben. Si se tratase de un hidrato de carbono, el oxígeno, para producir una combustión completa, se dirigiría únicamente al carbono, puesto que el hidrógeno y el oxígeno del hidrato de carbono están en la proporción de los elementos del agua. Supongamos el caso de la combustión de la fécula:

$$(1) \qquad C^6H^{10}O^5 + 6\ O^2 = CO^2 + 5\ H^2O.$$

Se ve, en este ejemplo, que el cociente de combustión $\frac{CO^2}{O^2}$ es igual a $\frac{6 \text{ volúmenes}}{6 \text{ volúmenes}}$, es decir, $= 1$.

No ocurre lo mismo en el caso de un cuerpo graso. En efecto, el oxígeno sirve entonces, no solamente para quemar el carbono, sino el exceso de hidrógeno que contienen todos

los cuerpos grasos con relación a los elementos del agua. Sea, por ejemplo, el ácido oleico, muy común en multitud de grasas:

(2) $$\underset{\text{Ácido oleico}}{C^{18}H^{34}O^{2}} + O^{51} = 18\ CO^{2} + 17\ H^{2}O.$$

Han sido, pues, necesarios 36 átomos de oxígeno para quemar los 18 átomos de carbono y, además, 15 átomos de oxígeno para quemar el exceso de hidrógeno H^{30} respecto de los elementos del agua; o sea, en conjunto, 51 átomos de oxígeno. La fórmula anterior (2) da, pues, para la relación $\frac{CO^2}{O^2}$:

$$\frac{CO^2}{O^2} = \frac{18 \text{ volúmenes}}{25{,}5 \text{ volúmenes}} = \frac{70}{100}.$$

El cociente de combustión es, por lo tanto, *inferior* a la unidad.

Admitamos que el cuerpo graso contenido en la semilla sea la *trioleína:* tendremos en el caso de una combustión completa:

$$(\underset{\text{Glicerina}}{C^{3}H^{8}O^{3}} + 3\ \underset{\text{Ácido oleico}}{C^{18}H^{24}O^{2}} = 3\ H^{2}O = \underset{\text{Trioleína}}{C^{57}H^{104}O^{6}}).$$

(3) $$C^{57}H^{104}O^{6} + 80\ O^{2} = 57\ CO^{2} + 52\ H^{2}O;\ \frac{CO^2}{O^2} = \frac{57}{80} = \frac{71}{100}.$$

Por lo tanto, para 80 moléculas de oxígeno absorbido, se desprenden sólo 57 moléculas de gas carbónico. Hemos visto, a propósito de la germinación de las semillas grasas, que, si una parte de la grasa sufría una combustión total, otra parte experimentaba una oxidación que la conducía a la composición de los hidratos de carbono. El oxígeno que interviene desempeña, por consiguiente, un doble papel: 1.º, quema *totalmente* una parte de la grasa con formación de agua y de gas carbónico, es decir, de *productos volátiles;* 2.º, se dirige a otra parte de la materia grasa convirtiéndola en hidratos de carbono sin desprendimiento de gases.

Resulta de esto que el cociente respiratorio $\frac{CO^2}{O^2}$ dependerá de tres factores:

1.° De la cantidad de grasa completamente oxidada con producción de agua y de gas carbónico.

2.° De la cantidad de grasa que será transformada en hidratos de carbono.

3.° De la cantidad de hidratos de carbono nuevamente formados que toman parte en la respiración.

Godlewski ha demostrado que este cociente varía esencialmente *con los diferentes períodos de la germinación* de una semilla grasa.

En el primer período, que corresponde a la hinchazón de la semilla y que dura unos dos días a la temperatura de 15 a 20°, la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ es aproximadamente igual a la unidad. La respiración parece, pues, efectuarse a expensas, no de una materia grasa, sino de un cuerpo que debe tener la composición de los hidratos de carbono, como indica la fórmula anterior (1). En realidad, las semillas oleaginosas más ricas en materias grasas contienen siempre, junto con estas materias, cierta cantidad de substancias hidrocarbonadas: estas substancias son las primeras que sirven para la combustión respiratoria.

El *segundo período* difiere esencialmente del primero; está caracterizado por la transformación de una parte de la grasa en *fécula transitoria* y por la combustión total de otra parte de la grasa. Estos dos fenómenos superpuestos se manifiestan por una absorción creciente de oxígeno: el cociente respiratorio, hasta ahora igual a la unidad, disminuye.

A partir del día tercero o cuarto de la germinación (rábano, cáñamo, linaza, alfalfa), se desprenden unos 60 volúmenes de gas carbónico para 100 de oxígeno absorbido. Esta relación $\frac{CO^2}{O^2} = \frac{60}{100}$ se mantiene poco más o menos constante durante los cuatro o seis días siguientes, cualquiera que sea el medio exterior, oxígeno puro o aire.

Dada la constancia de esta relación, se puede formar una idea bastante exacta de las transformaciones químicas que se realizan durante esa segunda fase de la germinación. En efecto, 60 volúmenes de gas carbónico, desprendidos durante la combustión de la trioleína, no exigen más que 84,2 volúmenes de oxígeno según la fórmula (3), porque $\frac{57}{80} = \frac{60}{84,2}$. Por lo tanto, de los 100 volúmenes de oxígeno absorbidos durante este segundo período, quedan 100—84,2 = 15,8 volúmenes de oxígeno disponibles destinados a transformar una parte de la grasa en hidratos de carbono. Es fácil calcular cuál es la cantidad de grasa desaparecida por combustión total, por una parte, y, por otra, la cantidad de grasa transformada en fécula. Se pueden expresar estas transformaciones de una manera satisfactoria por medio de la siguiente ecuación:

$$(4)\quad \underset{\text{(Trioleína, peso molecular = 884)}}{C^{37}H^{104}O^{6}} + 56O^{2} = \underset{\text{(Fécula, peso molecular = 4 × 162 = 648)}}{4\ C^{6}H^{10}O^{5}} + 33\ CO^{2} + 32\ H^{2}O.$$

El valor del cociente respiratorio es, pues:

$$\frac{CO^{2}}{O^{2}} = \frac{33 \text{ volúmenes}}{56 \text{ volúmenes}} = \frac{59}{100}.$$

$\frac{59}{100}$ se acerca mucho a $\frac{60}{100}$, cifra dada por el experimento.

Hemos visto, a propósito de la transformación de las materias grasas durante la germinación, que Müntz había demostrado que, antes de convertirse en hidratos de carbono, los cuerpos grasos se desdoblan en ácidos grasos libres y glicerina. Se pueden, pues, partiendo, no ya de la trioleína sino del ácido oleico, su producto de desdoblamiento, formular las transformaciones de la siguiente manera:

$$\underset{\text{(Ácido oleico)}}{3\ C^{18}H^{34}O^{2}} + 52,5\ O^{2} = \underset{\text{(Fécula)}}{4\ C^{6}H^{10}O^{5}} + 30\ CO^{2} + 31\ H^{2}O.$$

El cociente respiratorio es $\frac{CO^2}{O^2} = \frac{30 \text{ volúmenes}}{52,5 \text{ volúmenes}} = \frac{57,1}{100}$, cifra que se acerca a $\frac{60}{100}$.

La expresión (4) nos permite calcular cuál es la proporción de hidratos de carbono que resulta de la oxidación de los cuerpos grasos. Vemos que 884 gramos de trioleína dan 648 gramos de fécula, o bien: 100 partes de trioleína corresponden a 73 partes de fécula. Esto nos demuestra claramente que, durante la germinación de una semilla grasa, la pérdida de materia seca no es muy considerable, comparada con la que experimentan las semillas amiláceas.

En el tercer período de la germinación, la fécula nuevamente formada se transforma parcialmente en celulosa. Pero, la cantidad de celulosa que se forma es menor que la de la fécula desaparecida: se deduce de esto que una parte de la última ha sido destruída por combustión. Así, desde el principio de este período, el desprendimiento del gas carbónico aumenta y, hacia el día décimo, la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ vuelve a ser igual a la unidad. Resulta de ello que, en este momento, la combustión respiratoria no se ejerce ya más que en los hidratos de carbono.

Es evidente que, si las semillas con que se hace el experimento contienen a la vez aceite y materias amiláceas (semillas mixtas), las oscilaciones del cociente $\frac{CO^2}{O^2}$, todavía perceptibles, serán menos acentuadas que en el caso anterior, en que no se ha tratado más que de semillas esencialmente grasas.

Influencia de la presión del oxígeno en la respiración de las semillas.—Numerosos experimentos tienden a demostrar que el aumento de la presión parcial del oxígeno perjudica al desarrollo de las plantas en general, y que la intensidad respiratoria no es mucho mayor en el aire enriquecido en oxígeno que en el aire ordinario.

Godlewski ha encontrado que, en algunos casos, la pre-

sencia de un exceso de oxígeno ejerce una influencia aceleratriz en el fenómeno respiratorio, sobre todo al principio. En contacto con el oxígeno puro, algunas semillas, como la de rábano, desprenden más gas carbónico que en el aire normal; la diferencia es considerable. Pero, la relación $\frac{CO^2}{O^2}$ no depende de la presión del oxígeno.

Cuando hay disminución de la presión parcial del oxígeno, la relación anterior no varía; pero, si esta presión llega a ser inferior a cierto mínimo, la respiración normal es substituída por la respiración intramolecular.

Respiración de las semillas oleaginosas antes de su madurez. — Si se sigue la respiración de las semillas de *linaza* desde el momento en que, separadas de sus cápsulas todavía verdes, son blandas al tacto y de color blanco verdoso, hasta el momento en que pardean y pasan al estado de vida amortiguada (semillas maduras), se observa durante toda la maduración un cociente respiratorio *superior a la unidad*. Mientras maduran, estas semillas contienen hidratos de carbono que, poco a poco, se transforman en aceite. Pues bien, de la misma manera que la transformación de la materia grasa en hidratos de carbono es correlativa de una absorción de oxígeno que se manifiesta, como hemos visto antes, por un cociente respiratorio inferior a la unidad, el fenómeno inverso, que se presenta durante la maduración de la semilla oleaginosa, exige una eliminación de oxígeno, que se efectúa en forma de gas carbónico: el cociente respiratorio entonces es *superior a la unidad* Se puede expresar esto esquemáticamente mediante la siguiente ecuación:

$$20\ C^6H^{10}O^5 + 40\ O^2 = C^{57}H^{104}O^6 + 63\ CO^2 + 48\ H^2O.$$

Se tiene entonces:

$$\frac{CO^2}{O^2} = \frac{63}{40} = 1,57.$$

La intensidad respiratoria durante este período de la maduración es muy notable (Gerber).

Las semillas de *ricino* presentan fenómenos análogos. A partir del momento en que, blandas y blancas en el corte, han adquirido el máximo de su peso, hasta aquel en que se vuelven muy duras con disminución brusca de peso, estas semillas tienen un cociente respiratorio muy superior a la unidad. En este instante es cuando las materias azucaradas se transforman en aceite (Gerber). Este cociente es

independiente de la temperatura, cualquiera que sea la semilla oleaginosa considerada.

El estudio del cociente respiratorio constituye un complemento útil para el estudio químico de las variaciones de los principios inmediatos de la semilla durante su maduración. Se puede seguir mediante el análisis la desaparición de los hidratos de carbono y la correspondiente génesis de la materia grasa: acabamos de ver que el valor del cociente respiratorio, superior a la unidad durante este período, expresa exactamente la misma transformación. Recordaremos estos datos a propósito de la cuestión de la maduración de las semillas.

Observaciones sobre la oxidación de las materias grasas durante la germinación. — Hemos dicho antes que Godlewski había encontrado que el cociente respiratorio de las semillas oleaginosas durante el segundo período de su germinación era inferior a la unidad y aproximadamente igual a $\frac{60}{100}$. Hemos deducido de ello la ecuación (4), que representa la transformación de la trioleína en fécula. Otros experimentadores han observado a menudo un cociente respiratorio todavía menor, próximo, por ejemplo, a $\frac{30}{100}$ para las semillas de linaza. Esto se explica fácilmente por la velocidad desigual con que se oxidan las diferentes materias grasas contenidas en las semillas. Se podría admitir también que en ciertos momentos hay oxidación pura y simple de la materia grasa sin pérdida concomitante de gas carbónico, como en la ecuación siguiente:

$$(5) \qquad 2\,C^{57}H^{104}O^{6} + 56\,O^{2} = 19\,C^{6}H^{10}O^{5} + 9\,H^{2}O.$$

El cociente respiratorio sería entonces igual a 0.

Se comprende, pues, que la superposición de estos diferentes fenómenos: combustión total de la grasa (ecuación 3), combustión parcial con formación de fécula (ecuación 4), oxidación de la grasa sin desprendimiento de gas carbónico (ecuación 5), produce, según los casos, resultados variables, con cocientes respiratorios siempre menores que la unidad, pero de valores desiguales.

Respiración de las semillas que contienen materias amiláceas.—En este caso el fenómeno respiratorio es mucho más simple; el oxígeno se dirige exclusivamente al carbono, puesto que el hidrógeno y el oxígeno de los hidratos de carbono que constituyen la materia amilácea de reserva de la

semilla se hallan en las mismas proporciones que en el agua. Nuestra ecuación (1), antes mencionada:

$$C^6H^{10}O^5 + 6\ O^2 = 6\ CO^2 + 5\ H^2O,$$

nos enseña que el *cociente respiratorio es entonces igual a la unidad*. Esto es, en efecto, lo que se observa poco más o

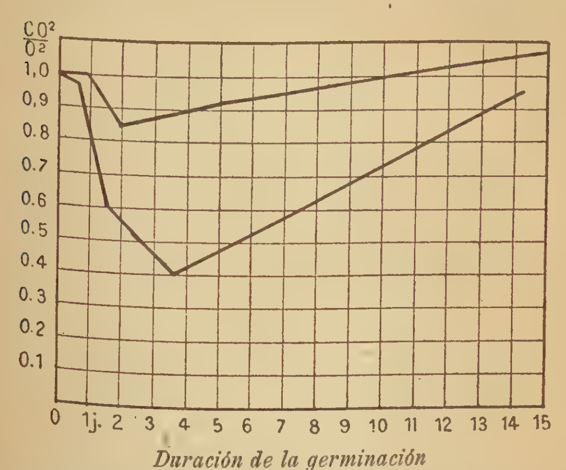


Fig. 11.—La curva superior representa las variaciones del cociente respiratorio de la semilla de trigo; la curva inferior las variaciones del de la semilla de linaza.

menos durante todo el tiempo que dura la germinación de una semilla amilácea (trigo, guisante). No hay aquí ya fenómenos de oxidación interna o, a lo menos, éstos son poco intensos; se ejercen en una pequeña cantidad de materia grasa que siempre contienen las semillas, aun las que son más ricas en fécula. En realidad, el cociente respiratorio es ligeramente inferior a 1. La respiración consiste, pues, aquí en una combustión pura y simple. Hemos dicho anteriormente que la fécula se convertía, durante la germinación, en materias azucaradas solubles, las cuales se polimerizan en seguida para formar celulosa: todas estas reacciones afectan exclusivamente a hidratos de carbono. Según Godlewski, la respi-

ración de las semillas amiláceas es notablemente acelerada cuando se aumenta la presión parcial del oxígeno.

La figura 11 representa, durante su germinación, las curvas respiratorias de dos clases de semillas, una esencialmente amilácea (trigo), otra esencialmente grasa (linaza).

Respiración de las semillas amiláceas durante su maduración. — Gerber ha examinado en este concepto las semillas de *guisante* tomadas de una vaina verde y que no habían llegado más que a la mitad de su desarrollo. Durante todo el período de la maduración, el cociente respiratorio es poco inferior a la unidad, a la inversa de lo que ocurre en las semillas oleaginosas. La intensidad respiratoria, al principio de la germinación, no experimenta el aumento considerable observado en las semillas grasas.

La judía y el haba se comportan de la misma manera.

Germinación de las plantitas en presencia de las materias azucaradas. — Lubimenko (1906) ha demostrado que, si se cultivan embriones de *Pinus pinea*, paralelamente en agua y en soluciones azucaradas (sacarosa), el cociente respiratorio es muy superior a la unidad en el último caso. La existencia de un cociente tan elevado es atribuíble a una fermentación semejante a la que producen las levaduras. En efecto, el líquido de cultivo contiene alcohol. Se trata aquí, pues, de una fermentación alcohólica que se efectúa al aire libre.

D. **Respiración de los frutos.**—La respiración de los frutos está íntimamente unida a su maduración. Examinaremos más adelante los fenómenos de maduración, y no trataremos aquí más que de lo relativo a los cambios gaseosos entre los frutos y la atmósfera.

Los frutos no maduros contienen cantidades variables, pero a menudo importantes, de muchos ácidos orgánicos, entre los cuales deben citarse principalmente los ácidos málico, tartárico y cítrico. Durante su maduración, la acidez desaparece o disminuye mucho, mientras que las materias azucaradas aumentan poco a poco.

Por lo que toca a los frutos en que predominan los ácidos (uvas, frutos de las auranciáceas), se encuentra que, a partir de cierta

temperatura, el cociente respiratorio $\frac{CO^2}{O^2}$ pasa de la unidad. Debajo de esta temperatura hay oxidación sin desprendimiento de gas carbónico. La temperatura a que los frutos ácidos tienen un cociente superior a la unidad varía con la naturaleza del ácido. Es menor en los frutos que contienen ácido málico que en los que contienen ácido tartárico o ácido cítrico (Gerber, 1899).

Debe admitirse que, después de haber absorbido cierta cantidad de oxígeno, los ácidos se desdoblan en gas carbónico y glucosa. Así, en el caso del ácido tartárico, se tendría:

$$6\,C^4H^6O^6 + 3\,O^2 = 2\,C^6H^{12}O^6 + 12\,CO^2 + 6\,H^2O;\ \frac{CO^2}{O^2} = \frac{12 \text{ vol.}}{3 \text{ vol.}} = 4.$$

Esta hipótesis está justificada por el hecho de que el cociente respiratorio es, a cierta temperatura, para los frutos ácidos, superior a 2 y aun a 3; además, su acidez disminuye mientras que la cantidad de azúcar aumenta. En las manzanas, la disminución correlativa de la fécula, durante la maduración, no puede explicar este aumento de la materia azucarada.

A pesar de su simplicidad, ¿es admisible esta hipótesis? La transformación de un ácido en hidrato de carbono no se ha conseguido todavía químicamente.

E. **Respiración de las flores.**— La mayor intensidad respiratoria en las flores se halla en los estambres y en el pistilo. Si se consideran las plantas monoicas y las dioicas, se observa que las flores masculinas respiran más activamente que las femeninas.

La flor es un órgano sometido a una oxidación enérgica. Desprende, a igualdad de peso, más gas carbónico que la hoja. La relación $\frac{CO^2}{O^2}$ es, además, generalmente menor que en la hoja. A la luz, las flores desprenden menos ácido carbónico que en la obscuridad.

Durante el primer período, la flor tiene una actividad respiratoria muy considerable, que disminuye después. El cociente $\frac{CO^2}{O^2}$, próximo a la unidad en las flores jóvenes, desciende a 0,7 y aun hasta 0,6 en las flores más viejas: lo que demuestra que en ellas las oxidaciones son menos intensas.

A igualdad de peso, las flores coloreadas poseen, a la luz, una intensidad respiratoria sensiblemente más enérgica que la de las flores blancas. Se puede creer que la absorción por las flores coloreadas de las radiaciones luminosas, que simplemente atraviesan las flores blancas, determina en el órgano, ya sea un calentamiento mayor, ya alguna otra modificación capaz, como la elevación de temperatura, de aumentar la energía de la respiración (Curtel, 1897).

F. **Composición de la atmósfera interna de los tubérculos y de las raíces tuberosas.** — Cuando se consideran las dimensiones de algunos tubérculos (patata) o de algunas raíces (remolacha, apio), se puede preguntar cómo penetra el oxígeno exterior en el seno de la masa de estos órganos. Tal vez no penetra hasta allí, y los tejidos profundos se encuentran sometidos a una respiración intracelular (véase más adelante), en la cual se produce gas carbónico sin absorción de oxígeno.

Devaux (1890) ha demostrado que la atmósfera interna de los tubérculos y de las raíces tuberosas contiene siempre oxígeno en notable proporción: es éste un resultado constante; la hipótesis de una respiración intracelular normal en el centro de los tejidos macizos debe ser rechazada.

La masa celular del tubérculo de la patata, por ejemplo, siempre es rica en meatos llenos de aire, que comunican entre sí mediante numerosas anastomosis. La envoltura exterior es delgada y está provista de aberturas de variable naturaleza, que ponen en comunicación los meatos con el aire exterior. Se pueden considerar los tubérculos y otros tejidos macizos como una masa muy porosa rodeada de una envoltura delgada y porosa, aunque en menor grado. Es posible aspirar aire a través de la masa de un tubérculo por medio de una diferencia de presión sólo de algunos centímetros de agua. En estado libre, y por vía de los poros externos y de los meatos, es como llega el oxígeno a las células más profundas.

Influencia de la luz en la respiración. — Cuando se trata de tejidos desprovistos de clorofila, sobre los cuales únicamente pueden hacerse experimentos en el caso actual, puede decirse que la luz ejerce una acción *marcadamente retardatriz* en el fenómeno respiratorio.

Los experimentos sobre este punto de Bonnier y Mangin (1884) fueron hechos primero con hongos. Se tomaron los mismos individuos cruzando los experimentos, es decir, exponiendo alternativamente los mismos individuos en la obscuridad y a la luz difusa, siendo iguales las demás condiciones (tiempo, temperatura, presión, estado higrométrico).

El método del aire confinado, como también el de la renovación continua de la atmósfera, enseña que el desprendimiento de gas

carbónico es menor a la luz que en la obscuridad. Asimismo, la absorción del oxígeno es menor, siendo iguales las demás condiciones, a la luz que en la obscuridad.

A igual temperatura, la región azul del espectro es más favorable a la respiración que la región amarilla: los rayos luminosos menos refrangibles retardan el fenómeno respiratorio respecto de los más refrangibles. La luz que ha atravesado una solución alcohólica de clorofila actúa sensiblemente como la obscuridad.

Bonnier y Mangin han estudiado igualmente la influencia de la luz *en la intensidad respiratoria de las semillas en germinación*, y han demostrado que esta intensidad disminuye con la iluminación.

La luz ejerce también una acción retardatriz en la respiración de las raíces, de los rizomas y de las flores de las fanerógamas desprovistos de clorofila *(Orobanches, Monotropa)* y de las plantas ahiladas, durante el período en que sus tejidos están todavía desprovistos de clorofila. Esta acción retardatriz tiene el mismo valor respecto del gas carbónico emitido que del oxígeno absorbido.

Acción de los anestésicos en la respiración. — Si se hacen actuar anestésicos, como éter, por ejemplo, durante un tiempo mayor que el que emplearon Bonnier y Mangin en sus experimentos de separación de la respiración de la función clorofiliana (pág. 70), se encuentra que la intensidad respiratoria del vegetal aumenta considerablemente.

V

TEORÍA DE LA RESPIRACIÓN

La combustión respiratoria, fuente de calor, suministra la energía necesaria para el funcionamiento del organismo vegetal, cuya existencia no está asegurada más que gracias a la actividad de ciertas reacciones químicas productoras de energía. La presencia del oxígeno *libre* en la atmósfera que rodea la célula no es indispensable para el funcionamiento de ésta, según veremos a propósito de la respiración intramolecular: en este último caso intervienen desdoblamientos de cuerpos oxigenados que proporcionan, durante cierto tiempo, la energía necesaria que exige la célula para el mantenimiento de la vida.

La respiración vegetal es un fenómeno fisiológico de gran

complejidad. Midiendo simplemente la relación entre el oxígeno consumido y el gas carbónico exhalado, no se observa más que la *resultante* de muchas reacciones que es difícil de separar entre sí. Recordemos una vez más que, si bien existen fenómenos de *combustión total* en los cuales se ve desaparecer la materia grasa o la materia hidrocarbonada en forma de agua y de ácido carbónico, hay muchos otros en los cuales no se observan más que *combustiones parciales sin desprendimiento de gas carbónico:* tal es el caso de la formación de los ácidos a expensas de los hidratos de carbono. Entre los fenómenos de desdoblamiento acompañados de una oxidación incompleta, debe citarse también la transformación de las materias albuminoides en amidas, de que hemos hablado a propósito de la germinación.

Parece, pues, que no hay correlación necesaria entre la absorción del oxígeno y el desprendimiento del gas carbónico y, cuando se observa en un momento dado de la vegetación que el cociente $\frac{CO^2}{O^2}$ es igual a la unidad, no debe deducirse siempre que en este momento preciso la combustión respiratoria afecta exclusivamente a los hidratos de carbono. Esta conclusión no sería legítima a causa de la variedad infinita de los fenómenos que se efectúan en la célula vegetal.

Sea lo que fuere, deben incluirse en el estudio de la respiración todas las reacciones que dependen de un cambio de gases con la atmósfera; este cambio de gases tiene por efecto, generalmente, poner el oxígeno en contacto con el protoplasma, y va o no acompañado de un desprendimiento de gas carbónico.

Substancias combustibles que desaparecen durante la respiración.—Cuando se trata de la semilla, es evidente que los elementos combustibles que desaparecen durante la respiración que acompaña a la germinación son, en primer término, los hidratos de carbono y las grasas, formando estas materias de reserva una gran proporción del peso de la semilla. También interviene el desdoblamiento, por oxidación, de los albuminoides, con formación de ácidos ami-

nicos; un cálculo muy sencillo demuestra que el *cociente de transformación*, es decir, la relación entre el gas carbónico desprendido y el oxígeno absorbido es, en este último caso, inferior a la unidad y próxima a 0,7. Pero, los albuminoides existen en la mayoría de las semillas, excepto en las de las leguminosas, en proporciones mucho menos considerables que los hidratos de carbono en las semillas amiláceas o que las grasas en las semillas oleaginosas. De manera que la combustión de los hidratos de carbono o la de los cuerpos grasos es la que *da el sello* al fenómeno respiratorio durante el período germinativo.

Es probable que ocurra lo mismo durante todo el período de la vegetación activa de la planta. La respiración afecta sobre todo a los hidratos de carbono. En efecto, si se mantiene en la obscuridad, y a temperatura constante, una rama de una planta verde, se observa que su intensidad respiratoria, medida por el desprendimiento de ácido carbónico, va decreciendo sin cesar. Es evidente que la combustión respiratoria no disminuye más que por efecto del agotamiento progresivo de las substancias de reserva que la función clorofiliana había acumulado, es decir, de los hidratos de carbono (Borodin).

Esto es lo que resulta claramente de los experimentos de Maquenne y Demoussy sobre la disminución progresiva del cociente respiratorio en los órganos separados de la planta (pág. 372). He aquí dos ejemplos:

Hojas arrancadas y conservadas en la obscuridad

		$\frac{CO^2}{O^2}$			$\frac{CO^2}{O^2}$
Ligustro adulto .	16 horas	= 1,02	Lila adulta . .	5 horas	= 1,03
	24 »	= 0,98		9 »	= 1,00
	41 »	= 0,88		24 »	= 0,92

Si se exponen a la luz, en una atmósfera enriquecida de gas carbónico, ramas agotadas, éstas almacenan menos hidratos de carbono: puestas otra vez en seguida en la obscuridad, dan cantidades de gas carbónico análogas a las que habían desprendido la primera vez.

Este experimento no puede prolongarse mucho tiempo en

la obscuridad, porque el protoplasma, en estas condiciones anormales, pierde poco a poco su vitalidad y luego no puede regenerar los albuminoides: éstos se destruyen en ausencia de la luz.

Debe deducirse de lo que precede que *la combustión respiratoria afecta a la vez a los hidratos de carbono y a los albuminoides*. Entre los primeros la fécula es el que desaparece en mayores proporciones.

Un hecho bien conocido pone de manifiesto el papel preponderante de los hidratos de carbono. Si se conservan tubérculos de patata en un local cuya temperatura apenas es mayor de 0°, estos tubérculos, por efecto de fenómenos diastásicos que en ellos se realizan, transforman en glucosa una parte de la fécula que contienen y toman sabor azucarado. Parece que una elevación de temperatura debiera acelerar esta sacarificación. Nada de esto ocurre: la elevación de la temperatura aumenta la intensidad respiratoria, débil a temperaturas bajas, y la glucosa desaparece a medida que se va formando.

Aunque estos experimentos demuestran de una manera cierta la desaparición por combustión de los hidratos de carbono, es extremadamente probable que esta combustión va acompañada de la formación, pasajera o definitiva, de substancias intermedias menos oxigenadas que el gas carbónico: los ácidos se hallan en este caso.

Fenómenos biológicos de desdoblamiento que acompañan a la respiración.—Se puede creer que la planta elabora constantemente algún principio fácilmente oxidable en contacto con el aire. Si, pues, se mantiene esta planta, o un órgano suyo como la hoja, en una atmósfera desposeída de oxígeno o en el vacío, el principio combustible debería entonces acumularse en sus tejidos y, tal vez, manifestar ulteriormente su presencia por un acrecentamiento de los fenómenos de la respiración normal. Esto es, realmente, lo que ha observado Maquenne (1894). Esta manera de operar exige evidentemente que las hojas empleadas resistan cierto tiempo a este régimen anormal. Muchas hojas se hallan en este caso; no se tienen en cuenta más que los experimentos en los cuales las hojas no han sufrido ninguna alteración. He aquí cómo se efectúan estos ensayos.

En el tubito de llave ya descrito (pág. 367) se introduce un peso conocido de hojas. Se hace el vacio mediante la trompa de mercurio, y se deja el aparato durante un tiempo dado y a una temperatura determinada. Transcurrido este tiempo se extrae con ayuda de la trompa el gas carbónico producido, y luego se deja entrar aire puro. Al cabo de una o dos horas se extrae este aire y se analiza. Se comparan los resultados así obtenidos con los que dan hojas iguales, puestas en un tubito igual, en contacto sólo con aire puro, durante el mismo tiempo y a la misma temperatura.

El examen de las cifras permite ver inmediatamente que la cantidad de gas carbónico emitida por las hojas que han estado, primero en el vacío y después en el aire, *es siempre mayor* que la que dan las hojas expuestas simplemente al aire:

	Peso de las hojas (en gr.)	Temperatura	Duración de los experimentos	CO^2 exhalado cent. cúb.	O^2 absorbido cent. cúb.	$\frac{CO^2}{O^2}$
Bonetero	2,75	22°	7 horas en el vacío, luego 2 horas en el aire.	2,12	2,13	0,99
	2,75	22°	2 horas en el aire.	1,59	1,24	1,28
Lila	4,55	18°	4 horas en el vacío, luego 1 hora en el aire.	2,02	1,94	1,04
	4,55	18°	1 hora en el aire.	1,39	1,43	0,97

Los cambios de gases que se efectúan entre las hojas vivas y el aire, en la obscuridad, son activados por una permanencia previa en el vacío. La respiración resulta, pues, de una combustión lenta de ciertos principios que elabora el vegetal. Estos principios continúan formándose y se acumulan en ausencia del oxígeno.

Papel de las enzimas en la respiración.—Palladin (1909) hace desempeñar a las enzimas un papel importante en la respiración vegetal. Según este autor, deben distinguirse dos períodos en la respiración normal: el uno, cuyo tipo es la respiración anaerobia de la levadura, produce alcohol y gas carbónico; el otro, exclusivamente aerobio, consiste en la oxidación total de los productos del primer período (alcohol) con formación de agua y gas carbónico. Estos dos períodos son consecutivos, porque la respiración aerobia, funcionando sola, es incapaz de oxidar los hidratos de carbono. El papel de la respiración anaerobia consistiría, pues, en transformar las substancias que resisten a la oxidación en productos fácilmente oxidables. En efecto, si después de haber mantenido órganos vegetales en una corriente de hidrógeno, se les expone en seguida al aire, el desprendimiento del gas carbónico es mucho más marcado que cuando no ha habido, preliminarmente, respiración anaerobia. Esta última ha hecho aparecer, pues, productos muy oxidables que

la presencia del oxígeno impide se pongan de manifiesto. Encontramos aquí, por lo tanto, una opinión conforme con la de Maquenne, formulada en el párrafo anterior.

La respiración anaerobia predomina en los órganos embrionarios: su intensidad disminuye en el momento del tránsito a la vida activa. Es tanto más débil cuanto más completamente ha adquirido el órgano su estado de pleno desarrollo. Así, las plantas inferiores, que permanecen durante toda su existencia en un estado embrionario, pueden tener una vida más o menos anaerobia.

En cuanto a la respiración aerobia, tiene como principales agentes los fermentos oxidantes. El papel de las oxidasas consistiría en transportar el oxígeno a los *cromógenos* para formar *pigmentos respiratorios:* éstos, a su vez, cederían su oxígeno a las materias hidrocarbonadas activando su combustión. En realidad, estos cromógenos están muy esparcidos en los vegetales: en efecto, unas veces su presencia se manifiesta por una oxidación directa con coloración de los jugos o extractos vegetales, otras veces, si falta la oxidasa, se descubrirá la existencia del cromógeno por medio de una peroxidiastasa y agua oxigenada. Los pigmentos coloreados desempeñan, pues, en el acto respiratorio un papel de intermediario que se puede concebir de dos maneras: o bien son los peróxidos los que, por la acción de las peroxidiastasas, ceden oxígeno activo, o bien son los *autoxidantes* los que, análogamente a los catalizadores, sirven para fijar el oxígeno en substancias capaces de engendrar peróxidos. Resulta de esto que, las oxidasas, los cromógenos, los peróxidos y las peroxidiastasas, son los factores indispensables que entran en juego en el segundo período de la respiración, el estadio aerobio.

Fenómenos químicos de desdoblamiento que acompañan a la respiración. – Los vegetales, especialmente las hojas, contienen ciertos principios desdoblables con formación de gas carbónico, *independientemente de toda acción vital*. Se puede demostrar esto de la siguiente manera:

En un matracito de vidrio se ponen unos treinta gramos de hojas, inmediatamente después de recolectadas. Se hace pasar por este matraz una corriente de gas hidrógeno para expulsar la totalidad del aire, y luego se le inmerge en un baño de aceite calentado a 110° para destruir pronto la vitalidad de las hojas. Se continúa la corriente de hidrógeno de manera que pasen de 1 a 2 litros por hora, y se determinan el agua y el gas carbónico producidos. Así, se ha obtenido, al cabo de quince horas y media, con hojas de trigo, un peso de gas carbónico correspondiente a 0,8 por 100 del peso de la materia seca. Pasado este tiempo, no se desprendía ya nada. Las hojas del *Sedum maximum* han dado, al cabo de ocho horas, un peso de gas carbónico correspondiente a 0,42 por 100 del peso de la materia seca; las hojas de *avellano* han dado, al cabo de

cinco horas, un peso de gas carbónico correspondiente a 0,71 por 100 del peso de la materia seca.

Cualquiera que sea la especie considerada, las hojas contienen, pues, un principio hidrocarbonado desdoblable con formación de gas carbónico. ¿No estaba este gas ocluído en las hojas? La acción preliminar del hidrógeno en frío ha debido eliminar, a lo menos en gran parte, los gases ocluídos preexistentes. En todo caso, estos gases ocluídos estarían comprendidos en la porción eliminada durante las primeras horas del calentamiento. Y, en el caso del trigo, el gas carbónico desprendido al cabo de hora y media no llegaba más que al 1/5 del desprendimiento total. Sería éste un límite máximo superior a la proporción que podía ser atribuíble al gas ocluído. La cantidad debe ser probablemente inferior a este límite. En efecto, la lentitud del desprendimiento del gas recogido en este experimento hecho con el trigo (y lo mismo ocurre con las demás hojas) presenta todos los caracteres de una verdadera descomposición *química*. Esta descomposición es debida principalmente a la reacción del agua con los principios inmediatos de la planta. En efecto, cesa completamente cuando, a la temperatura de 100°, no se recoge ya ningún indicio de agua.

Se podría suponer todavía que, al principio, hay algo de fermentación alcohólica; pero, la duración del tiempo transcurrido desde el principio de la calefacción hasta 94°, o sean diez minutos, impide atribuir a este fenómeno una influencia apreciable en la formación del gas carbónico.

Se trata, pues, aquí realmente de un *desdoblamiento* independiente de toda oxidación.

¿Cuál puede ser la influencia del oxígeno en las mismas condiciones? Adoptemos, para averiguarlo, el mismo aparato que antes; pero, hagamos pasar en las mismas condiciones una corriente de aire. Las hojas de trigo, al cabo de diez y seis horas, han dado un peso de gas carbónico correspondiente a 1,61 por 100 del peso de la materia seca, es decir, un peso doble del que ha dado el hidrógeno. El desprendimiento gaseoso se ha efectuado igualmente de una manera progresiva y ha cesado con la desaparición de las últimas trazas de agua. Las hojas de *Sedum maximum* han dado un peso de gas carbónico correspondiente a 0,78 por 100 del peso de la materia seca; las hojas de *avellano*, un peso de gas carbónico correspondiente a 1,08 por 100 del peso de la materia seca: estos dos pesos son también mayores que los obtenidos con el hidrógeno.

Se llega, pues, a la conclusión de que el gas carbónico desprendido resulta, a la vez, de un desdoblamiento progresivo efectuado en ausencia del aire y de una oxidación realizada en contacto con éste, cuyos efectos se suman con los de la reacción precedente. Estas reacciones son determinadas o, a lo menos, facilitadas por la presencia del agua (Berthelot y André, 1894).

VI

CALOR VEGETAL

«La influencia de los fenómenos térmicos interiores en la temperatura propia de las plantas ordinariamente es casi inapreciable: del mismo modo que en los animales de sangre fría. También los vegetales son capaces de tomar, como estos últimos, cierta dosis de energía calorífica de los medios en que viven. Solamente en condiciones excepcionales, como son la florescencia y la germinación, presentan los vegetales cierta elevación de temperatura, correlativa de estos actos fisiológicos, y producen un calor apreciable, atribuíble de ordinario a la absorción de oxígeno. El calor que entra en acción durante el desarrollo de los vegetales no resulta exclusivamente, o casi exclusivamente, de las energías químicas internas, como en los animales superiores. Por el contrario, las formaciones de principios que acompañan al desarrollo del vegetal son, por lo general, endotérmicas, es decir, que resultan de la intervención de energías exteriores: luz, calor solar y terrestre, electricidad. Resulta de esto que los vegetales son verdaderos acumuladores de las energías tomadas a los medios en que viven y condensadas en sus tejidos en forma química, mientras que estas mismas energías son devueltas al medio exterior por los animales superiores en diversas formas químicas, mecánicas y caloríficas.»

Estas líneas, debidas a Berthelot, resumen muy bien los principios de la calorificación vegetal.

La temperatura de una planta depende de causas de *orden físico:* circulación de la savia, evaporación en las superficies, influencia de las radiaciones recibidas, y de causas de *orden químico:* respiración, asimilación. El calor que procede de estas últimas constituye el *calor vegetal* (Longuinine y Dupont).

Todos los fenómenos de oxidación y de hidratación van acompañados de un desprendimiento de calor; la mayoría de

los fenómenos de desdoblamiento se encuentran también en este caso. No es necesario, en efecto, que el oxígeno intervenga directamente para producir un desprendimiento de calor: el desdoblamiento de la glucosa en gas carbónico y alcohol, en la fermentación alcohólica, corresponde a una reacción exotérmica: $C^6H^{12}O^6$ disuelto $= 2\ C^2H^6O$ disuelto $+ 2\ CO^2$ disuelto, desprende $+ 44{,}2$ calorías.

La fijación del agua en cuerpos condensados como la fécula, la inulina, la celulosa, con formación de glucosa o de levulosa, origina también un desprendimiento de calor.

El calor producido por el vegetal en todos los momentos de su existencia es utilizado para elevar su propia temperatura. Se comprende que este calentamiento sea lento, dada la gran cantidad de agua que contienen las hojas, por ejemplo. Otra parte de este calor producido radia en la atmósfera exterior. Por último, una parte de la energía desprendida se emplea en efectuar trabajos que requieren multitud de reacciones que contribuyen al desarrollo de la planta.

La mayor producción de calor corresponde siempre al período de mayor actividad respiratoria: esto es fácil de observar durante la germinación de las semillas. Basta introducir el depósito de un termómetro en una masa de semillas en germinación contenidas en una campana para observar que la temperatura indicada por el termómetro es muy superior a la del ambiente.

Cuando las flores se marchitan, su respiración es muy intensa: así es que desprenden en este momento una notable cantidad de calor, fácil de observar sobre todo en las flores masculinas de ciertas plantas unisexuales.

La observación del desprendimiento de calor puede ponerse especialmente de manifiesto empleando un *termómetro diferencial*. Se ponen alrededor de una de las bolas de éste semillas húmedas en germinación contenidas en un vaso *a*; la otra bola se rodea de semillas calentadas previamente a 100°, contenidas en un vaso parecido *b*. La bola del vaso *a* se calienta; el mercurio es empujado de la rama *d* a la rama *c*, y la diferencia de temperatura es proporcional a la diferencia de altura del mercurio en las dos ramas (fig. 12).

Longuinine y Dupont (1912), determinando las diferencias de temperatura en pequeñas plantas por medio de pinzas termoeléc-

tricas, han obtenido los siguientes resultados. Cuando se asciende del suelo a las extremidades de la planta, la temperatura crece primero rápidamente en el tallo para quedar luego sensiblemente constante y subir a veces en las extremidades jóvenes. En la hoja, la temperatura disminuye cuando se asciende en el peciolo; llega a un mínimo en el nacimiento del limbo y sube en seguida en el nervio central. En la yema, la temperatura es generalmente mayor que en el resto de la planta. Al sol, las temperaturas máximas generalmente se alcanzan en los órganos más gruesos. Los fenómenos de evaporación y de circulación de la savia ejercen un papel preponderante en la distribución del calor.

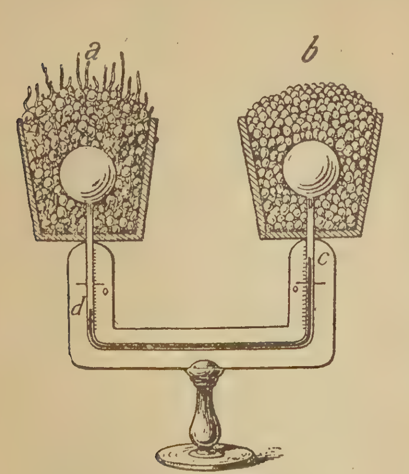


Fig. 12.—Termómetro diferencial.

Investigaciones calorimétricas de Bonnier (1886, 1893). — Estas investigaciones han conducido al autor a formular las conclusiones siguientes:

La cantidad de calor producido durante el mismo tiempo, por un mismo peso de una planta a la misma temperatura inicial, varía con el desarrollo de la planta. Cuando se trata de semillas, o de tubérculos y aun de yemas, se produce un máximo en la primera parte del período germinativo; se produce otro máximo en la flor después de la antesis.

Durante la primera parte del período germinativo, la cantidad de calor medida es superior a la que se obtiene calculando el calor de formación del gas carbónico producido por la planta durante el experimento; hasta es superior, en general, a la cantidad de calor que sería debido a la formación de ácido carbónico por todo el oxígeno absorbido.

Durante la florescencia, siempre que la cantidad de calor ha sido medida, ha resultado, por el contrario, inferior a la cantidad de calor calculada para el fenómeno respiratorio.

El máximo de calor desprendido durante el período germinativo corresponde con mucha aproximación al máximo de oxidación, es decir, al mínimo del cociente respiratorio; en todo caso, coincide más

bien con el máximo calculado para la oxidación total que con el calculado para el desprendimiento del gas carbónico.

La cantidad de calor producido por una misma planta, en un mismo estado de su desarrollo, aumenta mucho con la temperatura inicial.

Si, pues, se estudian los tejidos en el momento del consumo de una reserva determinada (principio de la germinación, por ejemplo), el calor desprendido por la transformación de las substancias de reserva (desdoblamientos e hidrataciones) viene a *sumarse* con el que produce el gas carbónico al formarse, y con el que produce la oxidación interna a causa del exceso de oxígeno absorbido. Si se estudian los tejidos en el momento de la formación de una reserva determinada, como ocurre en la época de la emigración de los materiales a las flores o al principio de la formación de los frutos, se observa que el calor absorbido por la creación de las materias de reserva viene, por el contrario, a *restarse* del calor que desprende la respiración.

VII

RESPIRACIÓN INTRACELULAR O INTRAMOLECULAR

Caracteres generales de la vida con o sin oxígeno. — Sabido es que la levadura de cerveza, así como muchos vegetales inferiores, cuando se desarrollan en contacto con soluciones azucaradas o con ciertas substancias ternarias, utilizan una parte del carbono de estas substancias para la formación de sus tejidos y hacen desaparecer otra parte por combustión respiratoria: los productos de excreción son entonces el agua y el gas carbónico. Si estos vegetales están privados de oxígeno *libre,* no pueden vivir más que a expensas de un corto número solamente de materias azucaradas, que desdoblan entonces en *alcohol* y *gas carbónico.* En el primer caso (aerobiosis), la multiplicación celular es muy activa; en el segundo, la célula obra como *fermento;* se desarrolla muy mal y origina productos que son perjudiciales para ella cuando han adquirido cierto grado de concentración.

Esta vida *anaerobia* de la célula no es exclusiva de la levadura. Se puede decir, de un modo general, que, cuando una planta o un órgano vegetal cualquiera han consumido

todo el oxígeno libre puesto a su disposición, son todavía capaces de *respirar*, es decir, de desprender gas carbónico en una atmósfera desoxigenada. Se da a este fenómeno el nombre de *respiración intracelular* o *intramolecular*. El origen del gas carbónico desprendido debe buscarse entonces en el *desdoblamiento* de ciertos hidratos de carbono. El desprendimiento gaseoso persiste tanto más tiempo cuanto más abundantes son estos últimos.

Esta respiración especial, esta *vida asfíxica*, principia aun cuando todavía hay oxígeno en la atmósfera. Cuando la proporción de este gas desciende a 2 ó 3 por 100, el cociente respiratorio, hasta entonces invariable, aumenta de un modo marcado. El desprendimiento del gas carbónico continúa durante algún tiempo, después disminuye y cesa completamente.

Esta resistencia a la asfixia varía con la naturaleza de las substancias contenidas en el vegetal o en el órgano considerado; varía con la temperatura cuya elevación acorta su duración, pero aumenta su intensidad. Por último, acaba con la muerte.

La célula, puesta al abrigo del aire, desempeña el papel de fermento alcohólico. – En la época en que Pasteur hacía sus memorables investigaciones sobre el *poder-fermento* de la levadura de cerveza, Lechartier y Bellamy (1869) demostraban que ciertos frutos (manzanas, grosellas, cerezas), contenidos en un recipiente provisto de un tubo de desprendimiento, absorbían rápidamente el oxígeno contenido en la atmósfera del recipiente y desprendían enormes cantidades de gas carbónico. Este desprendimiento continúa durante muchos meses: las manzanas, sometidas al experimento, pierden su consistencia ordinaria, se vuelven blandas y, fuera del color, toman el aspecto de una fruta modorra. El azúcar contenido en estos frutos disminuye, y se *forma alcohol*. Los citados autores extendieron en seguida sus investigaciones a otros frutos y también a semillas: observaron que el desprendimiento gaseoso, obtenido en ausencia del oxígeno y con formación concomitante de alcohol, era un hecho general. El alcohol y el gas carbónico se forman casi con igualdad de moléculas.

Según las ideas de Pasteur, se trata, pues, aquí de una *verdadera fermentación alcohólica* en la cual el fermento no es otro que la célula del fruto o del órgano vegetal empleados. Toda célula viva, puesta al abrigo del aire, puede desempeñar el papel de fer-

mento alcohólico. Las substancias antisépticas (fenol) y los vapores tóxicos (ácido cianhídrico, éter, cloroformo) anulan el *poder-fermento* de estas células.

La respiración intramolecular es, pues, un fenómeno muy general. Vegetales enteros, puestos durante cierto tiempo en el seno de un gas inerte, como el nitrógeno, contienen proporciones muy notables de alcohol, que llegan a menudo a $\frac{2}{1000}$ del peso de la planta (Müntz).

Esta presencia del alcohol en la planta, según algunos autores, parece ser una cosa normal. En efecto, si se destila rápidamente con vapor de agua una cantidad algo grande de hojas, inmediatamente después de ser recolectadas, el líquido destilado contiene pequeñas cantidades de alcohol (Berthelot, Devaux). Ciertas células, pues, a pesar de la presencia del aire, han funcionado como anaerobias.

Por otra parte, muchos experimentos tienden a hacer creer que el alcohol es un producto *normal* de la vida celular, que desaparece cuando la planta se desarrolla en contacto con el aire, pero que puede existir en pequeñas cantidades, sin embargo, de un modo transitorio, antes de ser utilizado.

Respiración intracelular de los hongos. — Mientras respiran los hongos al abrigo del oxígeno, no se desprenden, a lo menos en cantidad apreciable, principios carbonados combustibles: el único gas producido en abundancia es el ácido carbónico. Ciertos hongos, ricos en *manita* ($C^6H^{14}O^6$, alcohol hexavalente), como el *agárico,* exhalan, cuando están fuera de la acción del oxígeno, no solamente gas carbónico, sino también hidrógeno. El desprendimiento de este último gas se debe precisamente a la presencia de la manita en el tejido del agárico, puesto que algunas especies muy próximas que contienen *trehalosa* ($C^{12}H^{22}O^{11}$) en vez de manita, no desprenden indicios de hidrógeno en las mismas condiciones. Debe atribuirse a una fermentación alcohólica de la manita el desprendimiento de hidrógeno que se produce en estos hongos substraídos del contacto del oxígeno. En sus tejidos, se encuentra alcohol (Müntz).

Según hace notar Duclaux, la manita fermenta, aunque difícilmente, en contacto con la levadura de cerveza; pero, su fermentación produce también hidrógeno. Existe, pues, identidad de vida celular entre la seta y la levadura de cerveza.

Tal vez convendría hacer algunas reservas respecto de esta opinión. Recientes investigaciones de Kostytchew demuestran que el desprendimiento de hidrógeno, observado por Müntz en la respiración intracelular del *Agaricus campestris,* sería debido a la presencia de bacterias. Además, no se formaría nada de alcohol. Según Kostytchew (1908), en el zumo del *Agaricus* en presencia de fluoruro sódico se observa un vivo desprendimiento de gas carbónico, sin que aparezca alcohol. Este desprendimiento gaseoso, más abun-

dante en presencia que en ausencia del aire, no depende, pues, de la existencia de la zimasa. La adición de glucosa al zumo no influye en la producción del gas carbónico. Parece que se observan fenómenos análogos en algunas mucedíneas (*Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*). La respiración normal y la respiración intracelular de estos vegetales inferiores, alimentados con manita, no producirían hidrógeno.

Semillas que germinan al abrigo del aire.— Recordemos aquí los siguientes experimentos, de que ya hemos hablado a propósito de la germinación (pág. 328).

Si se inmergen semillas de guisante esterilizadas en agua esterilizada, no germinan: las reservas de la semilla que, normalmente, sirven para la formación de la joven planta, se solubilizan, y el líquido contiene alcohol. Esta transformación es tanto más completa cuanto más se prolonga la duración del experimento en condiciones en que el acceso del oxígeno sea del todo insuficiente.

Los guisantes, desposeídos de sus embriones y luego puestos encima de una capa de arena húmeda, dan también alcohol. El peso de éste aumenta mucho si, después de haber dejado alargar el tallito, se recubre éste de una capa de agua. Su desarrollo se detiene entonces, y aparece el alcohol en muy notable proporción. Se deduce de esto que el alcohol es un producto normal y necesario de la digestión de las substancias hidrocarbonadas, capaz de acumularse cuando falta el oxígeno del aire o cuando llega con dificultad a ponerse en contacto con la semilla, pero que, por el contrario, desaparece, hasta llegar a ser inapreciable, cuando la semilla se desarrolla en una atmósfera oxigenada (Mazé).

Experimentos de Godlewski y Polzeniusz (1898, 1901).—Para estudiar el desprendimiento del gas carbónico en los fenómenos de respiración intramolecular, estos autores emplean un frasco de vidrio con tapón de vidrio provisto de dos tubos. El uno está destinado a hacer el vacío y a tomar las muestras de gas; el otro está enlazado con un manómetro. Después de haber puesto un poco de agua en el frasco, se esteriliza éste y se introducen en él semillas esterilizadas, luego se hace el vacío y se deja el aparato en reposo a una temperatura fija: se podrá seguir cada día el desprendimiento gaseoso leyendo las indicaciones del manómetro. Cuando se quiere proceder a un análisis de los gases, se enlaza el aparato con una trompa de mercurio. En un volumen determinado del líquido se busca la cantidad del alcohol que contiene.

Si el mecanismo de la respiración intramolecular es idéntico al de la fermentación alcohólica, la pérdida de las semillas en materia seca deberá corresponder a los pesos reunidos del alcohol y del gas carbónico formados. Sin embargo, esta pérdida de materia seca debe someterse a una corrección, porque los dos productos volátiles de la respiración intramolecular tienen su origen en la fécula de las semillas. Esta fécula no puede descomponerse en gas carbónico y alcohol más que cuando ha sufrido una hidrolisis previa que la transforma en glucosa:

(1) $$C^6H^{10}O^5 + H^2O = C^6H^{12}O^6.$$
(2) $$C^6H^{12}O^6 = 2\,C^2H^6O + 2\,CO^2.$$

Por lo tanto, debe añadirse a la pérdida de materia seca el peso de esta agua de hidrolisis (ecuación 1), es decir, la décima parte del peso molecular de la glucosa.

La reacción expresada por la ecuación (2) se efectúa a menudo en las semillas amiláceas, como las de guisante. La pérdida de materia seca representa aproximadamente la suma del alcohol y del gas carbónico que se han formado.

Si al líquido contenido en el frasco se añade glucosa o sacarosa, se observa que, no solamente experimentan la fermentación las reservas hidrocarbonadas de las semillas, sino que lo mismo ocurre con los hidratos de carbono añadidos. Las células de la semilla se comportan, pues, como *verdaderos fermentos alcohólicos*. Durante esta evolución se nota que también hay formación de invertina, puesto que la sacarosa que no ha fermentado se encuentra al final en forma de azúcar invertido.

Así, pues, en ausencia del oxígeno, pueden formarse amilasa, invertina, y tal vez zimasa, en las células vegetales.

Si se añade nitrato potásico al líquido en que las semillas están inmergidas, la actividad respiratoria, que al principio es la misma que antes de añadir el nitrato, decrece luego y después cesa: se forman nitratos con desprendimiento de nitrógeno gaseoso. Una parte del nitrato parece servir aquí de alimento respiratorio; pero, los nitratos dificultan y luego anulan la respiración.

La intensidad de la respiración intramolecular crece proporcionalmente con la temperatura; pero, la duración del fenómeno disminuye a medida que la temperatura aumenta.

Es evidente que la intensidad de la respiración intramolecular de las diferentes especies de semillas no es igual: es débil en las semillas oleaginosas, puesto que, sin el concurso del oxígeno, no puede transformarse una grasa en alcohol y gas carbónico; la respiración sólo afecta entonces a los hidratos de carbono que existen en pequeña cantidad junto con las materias grasas en la semilla.

Parece que la muerte del protoplasma, al abrigo del aire, es debida a la formación de productos perjudiciales a su funcionamiento. La respiración intramolecular sería, pues, una especie de *medio de defensa* de que dispondría el organismo vegetal para luchar contra el envenenamiento debido a la falta de oxígeno.

La influencia favorable de las materias fermentescibles que actúan como alimentos respiratorios aparece en el hecho de que ciertas mucedíneas (*Aspergillus*, *Penicillium*) pueden vivir al abrigo del oxígeno en presencia de azúcar y de hidratos de carbono hidrolizables; pero, estos vegetales mueren si se substituyen los azúcares con ácido tartárico, por ejemplo. Sin embargo, este ácido, en presencia del oxígeno, es para ellos una buena substancia alimenticia. Por lo tanto, en estos organismos inferiores, el desprendimiento de gas carbónico, en ausencia del oxígeno, no es aún propiedad general de la célula; depende solamente de la *naturaleza* de los alimentos de que ella dispone.

Por consiguiente, se puede decir, con Godlewski y Polzeniusz, que la respiración intramolecular de las semillas, y tal vez de todos los órganos vegetales cuyo material respiratorio está formado por hidratos de carbono hidrolizables, es idéntica a la fermentación alcohólica.

Sin embargo. según Palladin y Kostytchew (1906), la producción de gas carbónico en la respiración anaerobia de los vegetales y de las semillas no podría atribuirse a una verdadera fermentación alcohólica, no sería debida a una verdadera diastasa. En efecto, la formación de alcohol es débil o nula, y la del gas carbónico considera-

ble, cuando se hacen respirar en una atmósfera de hidrógeno puro las hojas y las yemas terminales de la *Vicia faba*, o semillas de altramuz congeladas. No puede, pues, atribuirse entonces a la zimasa el desprendimiento del gas carbónico. Zaleski y Reinhard (1912) han demostrado que el alcohol es fácilmente oxidado por diversas substancias, como el negro animal, y también por las semillas de guisante trituradas. Se podría explicar así, en el caso anterior, la desaparición del alcohol producido.

Influencia de la adición de ciertas materias azucaradas en la respiración intramolecular.—Hay semillas, como las de altramuz, que son muy ricas en materias albuminoides y muy pobres en hidratos de carbono. Su respiración intramolecular en el vacío es débil: aumenta con la adición artificial de ciertas materias azucaradas. La glucosa es la más favorable de estas materias; la levulosa es mucho menos apta para provocar un desprendimiento de gas carbónico. La sacarosa no es utilizada como tal; experimenta una inversión previa y, en el líquido que queda después del experimento, se comprueba la presencia de azúcar invertido. En resumen, las semillas de altramuz se comportan como las semillas examinadas anteriormente, con la sola diferencia de que es necesario poner a su disposición substancias hidrocarbonadas que, normalmente, les faltan casi por completo. Se observa, a la vez, la presencia del alcohol (Godlewski). En algunos casos, bastante raros, sin embargo, se ha podido observar la germinación de semillas en el vacío en contacto con la solución azucarada.

Descomposición de las substancias albuminoides en la semilla privada de oxígeno.—Las materias albuminoides de una semilla esterilizada, puesta en un medio exento de oxígeno, experimentan una serie de transformaciones marcadamente distintas de las que se efectúan en presencia de este gas. La asparagina, que constituye el principal producto de la descomposición de las materias proteicas en este último caso, es poco abundante cuando la semilla se halla privada de oxígeno; entonces predominan los ácidos amínicos. No se observa desprendimiento de nitrógeno, ni en estado libre, ni en formas de amoníaco.

Hemos visto, a propósito del papel de la asparagina (pág. 338), que E. Schulze admite que esta amida debe ser considerada, a lo menos en la mayoría de los casos, no como un producto de descomposición de los albuminoides, sino como el primer término de la regeneración de éstos en las condiciones ordinarias de la vegetación. Ya que, durante la respiración intramolecular, no se ve aparecer más que una pequeña cantidad de asparagina, se puede creer que el ejercicio de la *respiración normal* es indispensable para que los ácidos amínicos se transformen en asparagina. Esta es, pues, un

producto de *oxidación* de los ácidos amínicos como son la alanina, la leucina y la arginina, más pobres que ella en oxígeno (Godlewski).

Comparación entre la intensidad de la respiración normal y la de la respiración intramolecular.—La intensidad de la segunda generalmente es más débil que la de la primera. Si, después de corto tiempo, se restituye a la planta el oxígeno que le hacía falta, la respiración normal recobra su intensidad primitiva; pero, si se deja pasar demasiado tiempo, y si el despréndimiento del gas carbónico sufre una disminución demasiado grande, la planta, puesta de nuevo en el oxígeno, no puede respirar.

La relación $\frac{I}{N}$ entre la respiración intramolecular y la respiración normal no es la misma para las diversas partes de una misma planta, fuera de algunas excepciones. En las mismas condiciones de tiempo y de temperatura, Pfeffer (1885) ha encontrado que esta relación es la siguiente:

Lactarius piperatus	0,31	Calabaza	0,95
Espádice de *Arum*	0,61	Trigo	0,49
Mostaza	0,17	Haba	0,99

Nicolas ha demostrado que la intensidad de la respiración presentaba, generalmente, valores muy próximos para el limbo, el tallo y el pecíolo. Esta intensidad es, para el limbo, siempre marcadamente más débil que la de la respiración normal. El limbo, comparado con el pecíolo y con el tallo, es el órgano en el cual $\frac{I}{N}$ tiene un valor menos elevado.

La respiración intramolecular no es una respiración normal.—Hemos visto, al tratar de la respiración de las semillas puestas debajo de una capa de agua (pág. 328), que, en estas condiciones de aereación insuficiente, se producían gas carbónico y alcohol: la planta no se desarrolla y es incapaz de utilizar el alcohol para la formación de sus tejidos. Hemos recordado además este experimento hace poco. Según ciertos autores, el alcohol debería ser considerado como un

producto *normal* de la digestión de las materias amiláceas.

Resulta de esto que, según esta opinión, la respiración intramolecular sería un fenómeno absolutamente general y que, si se comprueba en un vegetal ordinario que se desarrolla al aire libre la presencia de pequeñas cantidades de alcohol solamente, y a veces hasta la ausencia de este líquido, es que éste desaparece a medida que se forma a causa de una continua oxidación. Esta es una generalización algo prematura del fenómeno de nutrición observado en un hongo ascomiceto, el *Eurotyopsis Gayoni*, el cual consume azúcar, pero puede también consumir alcohol, glicerina y ácido láctico (Mazé).

Wortmann admite que todo el gas carbónico que desprende una planta que respire normalmente procede de la respiración intramolecular. El oxígeno del aire oxidaría al alcohol formado; se formaría primero ácido acético: $C^2H^6O + O^2 = C^2H^4O^2 + H^2O$, y luego polímeros de éste.

Sin duda la reacción $3\ C^2H^6O + O^6 = C^6H^{12}O^6 + 3\ H^2O$ es fuertemente exotérmica, pero esta transformación del alcohol en un hidrato de carbono no se ha conseguido todavía experimentalmente. Pfeffer hace notar que es posible que la formación del alcohol en la respiración intramolecular de los aerobios típicos, como son todos los vegetales superiores, resulte de una serie de reacciones que no se efectúan cuando la planta recibe todo el oxígeno que necesita; por otra parte, aun no se ha logrado nutrir una planta superior con alcohol.

La vida anaerobia no es una vida normal: las células de la levadura se multiplican mal en ausencia del oxígeno, y el alcohol que originan es una materia que, en un momento dado, se opone a la continuación del fenómeno de la fermentación.

Por lo demás, la vida anaerobia parece ser muy rara en los vegetales superiores, porque, según hemos dicho anteriormente (pág. 388), la atmósfera interna de los tubérculos y de las raíces tuberosas—cuyo grueso parecería ser un obstáculo para la circulación regular de los gases—contiene siempre oxígeno en notable proporción.

Sería más natural admitir, con Maquenne, que, ya que se produce aldehido fórmico en todas las combustiones, se for-

maría también en la respiración: $C^6H^{12}O^6 + O^4 = 2\ CO^2 + 4\ CH^2O + 2\ H^2O$. Este aldehido fórmico reproduciría las materias azucaradas por polimerización.

En resumen, nada nos autoriza, hasta ahora, a pensar que la respiración intramolecular sea el modo normal de la respiración vegetal y que uno de los productos constantes de esta respiración, el alcohol, sea la substancia necesaria para la elaboración de los tejidos vegetales.

VIII

PRESENCIA Y PAPEL DE LOS ÁCIDOS ORGÁNICOS EN LOS VEGETALES

Se puede admitir en general que, cuando el cociente respiratorio $\frac{CO^2}{O^2}$ es inferior a la unidad, hay oxidación de los principios constituyentes de los vegetales. Esta oxidación afecta a los hidratos de carbono y los convierte, temporal o definitivamente, en ácidos orgánicos.

De Saussure ha sido el primero en demostrar que las ramas o las hojas de *Cactus*, encerradas en un recipiente que contenga aire durante una noche, absorben una considerable cantidad de oxígeno, *sin que haya desprendimiento de gas carbónico*. Todas las hojas de las plantas carnosas, es decir, de las que tienen el parénquima grueso, se comportan de la misma manera. Estas hojas presentan el carácter común de estar protegidas contra la transpiración.

A esta absorción de oxígeno corresponde la formación correlativa de un ácido orgánico: hay, pues, *acidificación*. Esta se produce en la obscuridad y a baja temperatura. El fenómeno opuesto, la *desacidificación*, se efectúa en las condiciones inversas.

Una antigua observación de Heyne enseña que las hojas del *Bryophyllum calycinum* (crasuláceas) tienen por la mañana una marcada acidez, que disminuye durante el día.

Ciertamente existe una relación entre la presencia de los ácidos orgánicos y la formación de los hidratos de carbono; la persistencia de una proporción elevada de hidratos de carbono solubles en los tejidos de las plantas carnosas, hasta el término final de su existencia, puede explicarse admitiendo que la planta transforma durante el día una parte de los ácidos que contiene en hidratos de carbono,

produciéndose la reacción inversa durante la noche a baja temperatura. Pronto volveremos a ocuparnos en este asunto.

La periodicidad de la acidez es un fenómeno general: sólo difiere de una planta a otra por su intensidad. Esta periodicidad depende evidentemente de la iluminación (Kraus, 1884).

La formación de los ácidos corresponde a un fenómeno de oxidación.—Todos o casi todos los órganos vegetales presentan, en grado variable, fenómenos de acidificación; se trata aquí de una *respiración incompleta*, que no conduce ya a la formación de ácido carbónico, último término de la combustión del carbono, sino a compuestos menos oxigenados, cuya proporción de oxígeno es intermedia entre la del gas carbónico y la de los hidratos de carbono.

He aquí la proporción comparativa en oxígeno: 1.º, de la glucosa tomada como tipo de hidrato de carbono; 2.º, de los principales ácidos que se encuentran en los vegetales; 3.º, del gas carbónico.

Glucosa	$C^6H^{12}O^6$	contiene oxígeno por 100	53,33
Ácido succínico	$C^4H^6O^4$	—	54,23
— cítrico	$C^6H^8O^7$	—	58,85
— málico	$C^4H^6O^5$	—	59,70
— tartárico	$C^4H^6O^6$	—	64,00
— oxálico	$C^2H^2O^4$	—	71,11
— carbónico	CO^2	—	72,72

Se puede formular, de un modo general, esta respiración incompleta tomando como tipo de ácido el *ácido oxálico:*

$$C^6H^{12}O^6 + O^3 = 3\ C^2H^2O^4 + 3\ H^2O.$$

Expondremos algunos pormenores sobre la *presencia*, la *formación*, la *destrucción* y el *papel* de los ácidos orgánicos en el vegetal. Este es un corolario indispensable del estudio de la respiración y tiene gran interés desde el punto de vista fisiológico. Es verosímil que sea una *oxidasa* la causa que determina la producción de los ácidos en la planta.

Ácidos orgánicos que se encuentran más a menudo en las plantas.—No hablaremos aquí más que de los ácidos que se hallan más frecuentemente en los tejidos vegetales.

Acido fórmico H.CO²H. — Se ha encontrado este ácido en las hojas aciculares y en la madera del *Pinus abies*, en el zumo del *Sempervivum tectorum* (siempreviva mayor), en los frutos del *tamarindo (Tamarindus indica)* y en la ortiga [*Urtica urens*] (1). Este ácido se halla en estado libre o en forma de sales.

Acido propiónico CH³.CH².CO²H.—Se ha encontrado en los frutos del *Gingko biloba* y en las flores del *Achillœa millefolium*.

Acido butírico. — El ácido normal CH³.CH².CH².CO²H ha sido encontrado en los frutos del *Sapindus saponaria* y del *Tamarindus indica;* el ácido isobutírico (CH³)²CH.CO²H se ha encontrado en el *Tanacetum vulgare* y en el *Arnica montana* (2).

Acido valeriánico.—El ácido isovaleriánico (CH³)².CH.CH².CO²H se halla en las raíces de valeriana y de angélica, la corteza del *Viburnum opulus*, los frutos del *Gingko biloba*, las flores del *Anthemis nobilis*, la corteza del saúco, las hojas de artemisa.

Acido succínico CO²H.CH².CH².CO²H.—Se ha encontrado en las hojas de ajenjo, de adormidera, de celidonia, así como en las uvas verdes (3). Debe estar muy esparcido en el reino vegetal, porque los dos ácidos siguientes son productos directos de su oxidación.

Acido málico CO²H.CH(OH).CH².COH. — Se halla en muchas plantas; las manzanas y las serbas lo contienen en notables cantidades. Muchas plantas de la familia de las solanáceas también lo contienen (entre otras el tabaco); la mayor parte de las crasuláceas, de las mesembriantemeas, de las cactáceas, son ricas en malatos o en ácido málico libre. Las poligonáceas (género *Rheum*) contienen igualmente malatos (4).

Acido tartárico CO²H.CH(OH).CH(OH).CO²H. — Se halla este ácido en forma de tartrato potásico ácido en las uvas y en el zumo de los tallos jóvenes de la vid, en muchas plantas del género *Rhus*, en algunas plantas de la familia de las compuestas (taraxacón, topinambur) y en algunos *Rumex*.

Acido cítrico CO²H.CH².C(OH).CH².CO²H.
                                        |
                                      CO²H

Es uno de los ácidos más esparcidos en el reino vegetal. Muy abundante en los zumos de limón y de naranja y en el de las groselas, se halla también en los frutos de muchas rosáceas (serba, fresa, rosa, níspero), en las hojas o en los tallos de muchas plantas de la

(1) Se encuentra también ácido fórmico en los frutos del *Sapindus saponaria*, en la trementina, en las bayas verdes de enebro, en la uva verde, en la algarroba, en el *Gingko biloba*, etc.—C. B.

(2) En forma de éter glicérico se encuentra el ácido butírico normal en la *Amanita muscaria*, en forma de éter hexílico en la esencia del *Heracleum giganteum*, y en forma de éter octílico en la esencia de chirivía.—C. B.

(3) Se encuentra también en las capas corticales de la morera, en las semillas de cedoaria y de ricino, en la remolacha azucarera, etc.—C. B.

(4) El zumo de la grosella australiana *(Leptomeria acida)* parece contener este ácido en gran cantidad, es decir, en una proporción que llega hasta el 40 por 100, según Rennie.—C. B.

familia de las solanáceas (tabaco, alquequenge, pimiento, tomate, dulcamara), de los de las ericáceas y de los de las rubiáceas, etc. El *ácido aconítico*, que representa uno de sus productos de deshidratación, ha sido encontrado en muchas plantas de la familia de las ranunculáceas (1).

Acido oxálico $CO^2H.CO^2H$. — Es tal vez el más común de todos los ácidos orgánicos encontrados en las plantas. Abunda especialmente en las plantas de la familia de las poligonáceas (*Rumex, Rheum*). Se halla en estado de oxalato potásico ácido, de oxalato cálcico y de ácido oxálico libre.

Es imposible citar todos los vegetales en que ha sido encontrado; tal vez se halla en todas las plantas, a lo menos en un momento dado de la vegetación.

El ácido oxálico se forma de preferencia en la hoja. Ciertos vegetales, como el *Amarantus candatus*, apenas contienen ácido oxálico más que en la forma insoluble de oxalato cálcico. Esta última planta almacena enormes cantidades de nitrato potásico. En la acedera (*Rumex acetosa*), el ácido oxálico se halla a la vez en forma soluble y en forma insoluble (oxalato potásico, oxalato cálcico). En el *Mesembrianthemum cristallinum* también existen los oxalatos en las dos formas. Al fin de la vegetación de esta planta, los oxalatos predominan en la hoja, pero se hallan casi exclusivamente en forma soluble, lo mismo que en otras partes del vegetal [Berthelot y André, 1895] (2).

Es curioso ver que, normalmente, no existe ácido acético en las plantas.

Relaciones que tienen entre sí los ácidos vegetales. —Dada la presencia del ácido succínico en muchos vegetales, especialmente en el zumo de las uvas verdes, es posible admitir que el ácido málico deriva de él por oxidación directa, y que lo mismo ocurre con el ácido tartárico:

$$\underset{\text{Ác. succínico}}{C^4H^6O^4} + O = \underset{\substack{\text{Ác. málico}\\ \text{o monoxisuccínico}}}{C^4H^6O^5} \qquad C^4H^6O^5 + O = \underset{\substack{\text{Ác. tartárico}\\ \text{o dioxisuccínico}}}{C^4H^6O^6}.$$

El origen del ácido succínico podría buscarse en la oxidación de las materias grasas. Además, se encuentra constan-

(1) El ácido aconítico $C^3H^3(CO^2H)^3$ se encuentra en forma de sal cálcica en las partes verdes de las especies del género *Aconitum*, en el *Adonis vernalis*, el *Delphinium consolida*, el *Equisetum fluviatile*, la *Achillea millefolium*, en el zumo de la remolacha, del sorgo y de la caña de azúcar, etc.—C. B.

(2) El ácido oxálico sólo se encuentra raras veces en estado libre: en el *Boletus sulfureus* y el *B. igniarius*, en el *Hypha bombycina* y en otros hongos, así como en los pelos de los garbanzos.—C. B.

temente en los productos de la fermentación alcohólica y entre los de la descomposición de los albuminoides. Tal vez se forma en el vegetal por efecto de una de estas reacciones. Existen estrechas relaciones entre este ácido y la asparagina o ácido aminosuccinámico: $CO^2H.CH.^2CH(NH^2).CONH^2$.

Entre los productos de la oxidación de la glucosa, se ha señalado la presencia de los ácidos fórmico y tartárico. El más abundante de todos los ácidos vegetales, el ácido oxálico reconoce seguramente un origen análogo. Todas las materias azucarada y celulónica lo producen cuando se las somete a la acción de muy diversos oxidantes.

En cuanto al ácido cítrico, tan abundante en multitud de plantas, no se le puede asignar todavía ningún origen: la acción de los hidratos de carbono no lo produce. Las mucedíneas del género *Citromyces,* en presencia de glucosa, lo producen directamente.

Estados en que se encuentran los ácidos. — No es raro ver coexistir en el mismo órgano vegetal muchos ácidos a la vez. La coexistencia de los ácidos málico y oxálico es regla general en muchas plantas carnosas. Un mismo ácido puede encontrarse en parte en estado libre y en parte en estado de sal: el ácido tartárico, por ejemplo, se encuentra en las uvas en estado de libertad y en estado de bitartrato potásico. El potasio y el calcio son los metales que más a menudo se hallan unidos con los ácidos en los vegetales. Una misma planta, o un mismo órgano, pueden contener a la vez el mismo ácido en una forma soluble (por ejemplo, oxalato potásico ácido) y en una forma insoluble (oxalato cálcico). La acumulación de estas sales a veces es considerable: el oxalato cálcico forma hasta el 50 por 100 del peso seco de algunas *cactáceas;* las hojas de ciertas *crasuláceas* pueden contener hasta 30 por 100 de malato cálcico referido a la substancia seca.

El oxalato cálcico, insoluble, es la sal más frecuentemente observada en los tejidos vegetales en forma cristalina. Se encuentra cristalizado en dos formas: la de prisma clinorrómbico y la de prisma cuadrático. Es, pues, dimorfo. A veces los cristales son muy pequeños y de aspecto granujiento. En la célula se halla en cristales aislados o formando agrupaciones cristalinas (esferocristales, rafidios).

Si el ácido oxálico puede formarse a causa de la actividad normal de la célula, también aparece cuando la membrana de ésta engruesa y se lignifica, lo que indica un estado de degeneración. Así, independientemente de su *origen respiratorio,* que no es más que uno de los términos de la combustión incompleta de los hidratos de

carbono, se puede creer que el ácido oxálico puede aparecer igualmente por efecto de una destrucción de las materias albuminoides. En efecto, Schützenberger ha demostrado que la hidratación de estos últimos, conseguida por la acción del calor y de bases enérgicas, suministraba los ácidos carbónico, acético y oxálico. El último sería, pues, un producto de regresión celular.

Inversamente, el ácido oxálico se forma verosímilmente en la síntesis de los albuminoides a partir de la asparagina. Esta, para transformarse en un albuminoide, debe ganar carbono e hidrógeno y perder oxígeno (pág. 333). Este oxígeno se dirigiría a los hidratos de carbono y podría engendrar así ácido oxálico. Se puede representar esquemáticamente la reacción de la siguiente manera:

$$\underset{\text{(Asparagina)}}{18\ C^4H^8N^2O^3} + \underset{\text{(Glucosa)}}{17\ C^6H^{12}O^6} + 2\ SO^4H^2 = \underset{\text{(Albúmina)}}{2\ C^{72}H^{112}N^{18}O^{22}S}$$
$$+ \underset{\text{(Ác. oxálico)}}{4\ C^2H^2O^4} + 22\ CO^2 + 60\ H^2O.$$

Si el cociente $\frac{CO^2}{O^2}$ es inferior a 1 cuando hay oxidación de la albúmina con formación de asparagina, inversamente este cociente debe ser mayor que la unidad cuando hay regeneración de la albúmina partiendo de la asparagina.

En una planta mantenida en la obscuridad no se forma ácido oxálico: en efecto, la regeneración de los albuminoides no se efectúa en estas condiciones [Kohl] (véase lo que se ha dicho sobre este punto a propósito de la teoría de la formación de los albuminoides, página 243).

Muchas bacterias *(Bacillus corallinus, Bacterium aceti,* etc.) transforman la glucosa en ácido oxálico; lo mismo ocurre con ciertas mucedíneas. Los hongos pertenecientes a los géneros *Polyporus, Tuber, Psalliota,* contienen ácido málico. Muchas bacterias forman ácido succínico.

Así, en resumen, si los ácidos vegetales aparecen en las plantas superiores como términos intermedios entre los hidratos de carbono y el gas carbónico, y si constituyen los productos de una oxidación o de una respiración incompletas, se observa el mismo fenómeno en las plantas inferiores hasta en los grados más bajos de la escala de los seres vivos. Esta formación de ácidos se efectúa tanto en la vida aerobia como en la anaerobia. En el último caso no interviene el oxígeno *libre;* los ácidos proceden entonces de transformaciones consecutivas a desdoblamientos.

Transformaciones recíprocas de los ácidos orgánicos. — Dos plantas carnosas, el *Mesembrianthemum cristallinum* (mesembriantemeas) y el *Sedum azureum* (crasuláceas), no contienen, en proporciones apreciables, más que dos ácidos: el oxálico y el málico. La base que predomina en las cenizas de la primera es la potasa; en la segunda, es la cal. En el primero de estos vegetales la cantidad de ácido oxálico total va disminuyendo a medida que la planta envejece, mientras que la cantidad de ácido málico aumenta incesantemente. La suma de los pesos de los ácidos oxálico y málico permanece poco más o menos constante durante toda la vegetación y representa, por término medio, 1/6 del peso total de la planta seca. El ácido oxálico se destruye tal vez por simple oxidación, y la formación del ácido málico sería independiente de su desaparición. Se puede creer, en efecto, que el ácido oxálico representa el penúltimo término de la oxidación de los hidratos de carbono, siendo el último evidentemente el ácido carbónico. O bien, se puede suponer, pero con muchas salvedades, que el ácido málico se origina por reducción del ácido oxálico de los oxalatos solubles:

$$2\ C^2H^2O^4 + H^8 = C^4H^6O^5 + 3\ H^2O,$$

por la acción de la función de asimilación.

El *Sedum azureum*, cuyas cenizas son sobre todo ricas en cal, se comporta de un modo del todo diferente desde el punto de vista de la acidificación. La proporción de ácido oxálico total siempre es en él muy escasa; los oxalatos solubles también desaparecen hacia el fin de la vida de la planta. El ácido málico existe en cantidades notables aun en la planta muy joven, y la proporción de este ácido permanece aproximadamente constante durante toda la vegetación.

La diferencia que existe en la acidificación en estas dos plantas puede atribuirse a la naturaleza y a las distintas cantidades de bases que contienen (G. André, 1905).

Observación sobre la acidez de los jugos vegetales y la riqueza total de éstos en ácidos orgánicos. — El zumo de todas las plantas presenta una reacción más o menos ácida. Pero, notemos que no existe relación entre la proporción total de los ácidos vegetales contenidos en una planta, en estado libre ó combinado, y el *valor acidimétrico* de los zumos extraídos de sus diferentes partes. En efecto, el proceso de la formación de los ácidos es del todo independiente del de su neutralización. Esta se realiza a expensas de los álcalis, potasa y cal, tomados del suelo. Un zumo de una planta puede ser casi neutro, a pesar de contener grandes cantidades de ácidos (en forma salina) Lo que importa, pues, conocer es la dosis equivalente de los ácidos vegetales, tanto de los que se valoran directamente como de los que estan combinados. Para ello se determinarán las bases contenidas en las cenizas, descontando

del peso de éstas el ácido fosfórico y el ácido sulfúrico. Se tendrá igualmente en cuenta la cantidad de las bases que corresponda al ácido nítrico de los nitratos. Para una apreciación sumaria de la formación de los ácidos vegetales, es decir, para obtener una cifra que represente la suma de sus equivalentes, se obtendrán los resultados más exactos determinando el valor alcalimétrico de las cenizas procedentes de la incineración de un peso conocido de materia seca. Se logrará así un valor aproximado relativo a la suma de los ácidos vegetales, y se le añadirá el valor de la acidez del zumo, que siempre es bajo (Berthelot y André).

Después de haber demostrado la presencia de los ácidos en los vegetales, estudiemos el modo como se forman.

Formación fisiológica de los ácidos.—La condición de esta formación estriba en la mayor o menor facilidad de penetración del oxígeno a través de los tejidos vegetales. Así, en este concepto, las plantas de hojas coriáceas, las *plantas carnosas*, presentan un grado de acidificación mucho más acentuado que el de las plantas cuyas hojas son delgadas. Por esto la mayoría de los experimentos hechos sobre la aparición y la desaparición de los ácidos se han efectuado con plantas carnosas.

Existe una periodicidad muy notable en la formación y en la destrucción de los ácidos. En la obscuridad, sobre todo si es baja la temperatura, la planta acumula visiblemente ácidos. Se observa entonces una constante absorción de oxígeno, mientras que el desprendimiento de ácido carbónico es escaso y, con frecuencia, hasta nulo. Si se expone la planta así *acidificada* a la radiación solar, los ácidos desaparecen paulatinamente. La radiación desempeña un papel, pero la elevación de temperatura ejerce una acción más importante todavía en el fenómeno de la desacidificación.

La acidificación en la obscuridad, por consiguiente durante la noche en las condiciones normales, es pues probablemente debida al hecho de que, durante este período, la planta contiene sobre todo hidratos de carbono solubles procedentes de la disolución de la fécula. Estos hidratos solubles serían más fácilmente oxidables que la fécula.

La destrucción a la luz de los ácidos acumulados durante

la noche es causa de un hecho muy curioso. Si se ponen hojas de plantas carnosas, que estaban en la obscuridad, en una atmósfera desprovista de gas carbónico y se someten a la acción de los rayos solares directos, se observa que hay un *aumento* del volumen gaseoso debido a un desprendimiento de oxígeno. Las hojas de plantas carnosas inmergidas, a la luz solar, en agua hervida desprenden también oxígeno puro, mientras que en las hojas de otras plantas no se presenta desprendimiento de gases (Mayer, 1875, 1878). Se deduce de esto que, en las plantas carnosas, las partes verdes expuestas al sol pueden descomponer, no solamente el gas carbónico de la atmósfera, como todos los vegetales verdes, sino que son capaces, además, *de reducir el ácido carbónico procedente de la destrucción de los ácidos vegetales y de hacer desprender su oxígeno*. Así la luz determina la oxidación total de los ácidos: éstos suministran gas carbónico, que es afectado por la función clorofiliana antes que haya tenido tiempo de ser expulsado al exterior. La consecuencia de esta desacidificación es, pues, un desprendimiento de oxígeno que se produce en un medio exento de gas carbónico. Debe notarse que la acidificación de las hojas de las plantas carnosas no parece ser un fenómeno puramente químico, sino que esta acidificación esta íntimamente relacionada con la vida celular, con la actividad del protoplasma. En efecto, si se anestesia el protoplasma mediante vapores de éter o de cloroformo, se anula, en las crasuláceas, la producción nocturna de ácido málico. Suprimiendo la asimilación clorofiliana a la luz por este mismo procedimiento, se dificulta mucho la desacidificación. La función clorofiliana desempeña, pues, un papel importante en este último fenómeno (Warburg, Astruc). En cuanto a las plantas ahiladas, son siempre muy pobres en ácidos.

Aubert (1891) ha demostrado que, en algunos casos, las *cactáceas* pueden presentar a la luz un desprendimiento simultáneo de oxígeno y de gas carbónico. En efecto, estas plantas poseen un parénquima profundo, incoloro y un tejido superficial que contiene clorofila. Noche y día estas dos capas respiran y desprenden una proporción bastante grande de gas

carbónico, que el tejido superficial, que es el solo capaz de asimilar a la luz, puede no descomponer por completo. Se desprende, por lo tanto, gas carbónico y no se observa ya su presencia si se rebaja la actividad respiratoria disminuyendo la temperatura hacia unos 10-15°, o exponiendo la planta a una luz intensa.

La formación de los ácidos es una causa del aumento de la presión osmótica en la planta.—La transformación, por oxidación incompleta, de la glucosa en ácidos aumenta la presión osmótica en el jugo celular. Se puede comprender esto de la siguiente manera. Puesto que una molécula de todos los cuerpos disueltos en un mismo volumen de agua tiene siempre la misma presión osmótica (1), y que todas estas soluciones son, por consiguiente, *isotónicas*, se concibe que, de los cuatro ácidos vegetales más comunes: oxálico, málico, tartárico y cítrico, sea el ácido oxálico el que, por transformación de 1 molécula de glucosa, eleve más la presión osmótica. En efecto, 1 molécula de glucosa da, por oxidación, 3 moléculas de ácido oxálico:

$$C^6H^{12}O^6 + O^9 = 3\ C^2H^2O^4 + 3\ H^2O.$$

Una molécula de glucosa no da más que 1,5 molécula de los ácidos málico y tartárico:

$$2\ C^6H^{12}O^6 + O^6 = 3\ C^4H^6O^5 + 3\ H^2O.$$
$$2\ C^6H^{12}O^6 + O^9 = 3\ C^4H^6O^6 + 3\ H^2O.$$

Una molécula de glucosa da solamente 1 molécula de ácido cítrico:

$$C^6H^{12}O^6 + O^3 = C^6H^8O^7 + 2\ H^2O.$$

El aumento de la presión osmótica variaría, pues, con la naturaleza del ácido.

Esta explicación del aumento de presión es plausible; sin embargo, no está completamente demostrada.

Producción de ácidos por destrucción de la molécula albuminoide.—Otra manera de considerar los fenómenos de acidificación ha sido propuesta por Mazé y Perrier (1904). Estos autores han tomado como ejemplo la formación del ácido cítrico por ciertos hongos del género *Penicillium*, frecuentes en las disoluciones de ácidos orgánicos. En los cultivos puros de estos *Citromyces*, el ácido cítrico aparece cuando el velo ha adquirido su peso máximo. En este momento, si se analiza el medio de cultivo, se observa que casi no existe ya nitrógeno asimilable en este líquido. El peso

(1) Suponiendo naturalmente que la temperatura sea la misma y que el cuerpo no sea electrolito.—C. B.

del cultivo permanece poco más o menos constante con una tendencia a un ligero aumento durante todo el tiempo de la formación del ácido cítrico. Este parece, pues, formarse mediante un mecanismo de desasimilación que provoca la penuria de nitrógeno. Se puede, efectivamente, comprobar que la riqueza del medio en nitrógeno asimilable ejerce influencia respecto del momento en que el ácido cítrico aparece: cuanto mayor es, más tarda el ácido en formarse. Las células jóvenes del hongo toman, para su construcción, el nitrógeno de las células viejas después de haberlo libertado de sus grupos carbonados, entre los cuales debe hallarse el ácido cítrico. Esta producción de ácido cítrico no es debida a un fenómeno de oxidación incompleta, puesto que basta poner un cultivo joven al abrigo del aire, en el momento en que ha llegado al máximo de su desarrollo (sin que haya todavía formación de ácido cítrico) para, al cabo de algunas horas, ver aparecer este ácido en cantidades crecientes.

Los ácidos, a lo menos en este caso particular, serían, pues, cuerpos que se desprenderían de la molécula albuminoide por un proceso de desasimilación.

Substancias producidas por la transformación de los ácidos a la luz.—Hemos visto que los ácidos, cuando se destruyen por la acción de la luz solar, originan un desprendimiento de oxígeno. ¿Qué se hace de su carbono y en qué forma se le encuentra? A. Mayer (1884) ha demostrado que la transformación de los ácidos a la luz determinaba la producción de materias azucaradas, a lo menos en las crasuláceas. La reducción de los ácidos vegetales en las hojas iría, pues, acompañada de la formación de substancias idénticas a las que produce normalmente la función clorofiliana a expensas del gas carbónico de la atmósfera. De manera que la reacción que, en la obscuridad y a baja temperatura, produce por oxidación los ácidos vegetales sería *reversible* y originaría, a la luz, un desprendimiento de oxígeno seguido de la aparición de un hidrato de carbono. Tomando como ejemplo el ácido málico, se tendría:

$$2\ C^6H^{12}O^6 + O^6 = 3\ C^4H^6O^5 + 3\ H^2O \text{ (acidificación).}$$
$$3\ C^4H^6O^5 + 3\ H^2O = 2\ C^6H^{12}O^6 + O^6 \text{ (desacidificación).}$$

Cuando los ácidos se destruyen en la obscuridad, a temperatura elevada, su oxidación es total, y el cociente respiratorio es superior a la unidad:

$$C^4H^6O^5 + O^6 = 4\ CO^2 + 3\ H^2O;\ \frac{CO^2}{O^2} = \frac{4}{3}.$$

De lo que precede deriva una consecuencia muy importante. Todos los vegetales contienen, en mayor o menor cantidad, ácidos orgánicos, y acabamos de ver que una temperatura elevada favorecía su destrucción. Así, pues, si a una temperatura, baja o media, el cociente respiratorio $\frac{CO^2}{O^2}$ es menor que la unidad o igual a ella, a una temperatura más elevada pasará a ser superior a la unidad.

Modificaciones del cociente respiratorio por la acción de los ácidos.—Vamos a examinar algunas de estas modificaciones. A baja temperatura y en la obscuridad, este cociente es muy inferior a la unidad. A alta temperatura, ocurre lo contrario. Se pueden provocar artificialmente cambios profundos en el valor de este cociente operando de la manera siguiente:

Mangin (1889) escogió hojas que, normalmente, no contienen más que muy pequeñas proporciones de ácidos orgánicos, e inyectó en su parénquima, ya soluciones valoradas de ácidos diluídos, ya agua destilada. Las hojas de bonetero, inyectadas de ácidos orgánicos (málico, cítrico, tartárico), desprenden a la luz oxígeno como las hojas de las plantas carnosas. La cantidad de gas desprendido varía con la naturaleza del ácido empleado. El ácido málico da, en igualdad de condiciones, más oxígeno que el ácido cítrico, y éste más que el ácido tartárico. Empleando el ácido málico, el desprendimiento gaseoso, ya apreciable con líquidos al centésimo, aumenta gradualmente y llega al máximo en una concentración del 3 al 4 por 100. Disminuye en seguida cuando la riqueza en ácido de las soluciones pasa de cierto límite: los ácidos concentrados ejercen una acción nociva muy marcada sobre el protoplasma.

Se comprende, pues, que, en estas condiciones, el cociente respiratorio normal, así como la relación entre el oxígeno desprendido y el ácido carbónico absorbido en la función clorofiliana normal, queden fuertemente modificados.

La presencia de los ácidos orgánicos cambia también la naturaleza del fenómeno respiratorio en la obscuridad. Si se comparan los cambios gaseosos de las hojas normales con los de las hojas inyectadas de ácidos, se encuentra que las hojas que han recibido ácido málico exhalan, en la obscuridad, un volumen de gas carbónico muy superior al volumen de oxígeno que absorben. La relación $\frac{CO^2}{O^2}$ siempre es mayor que la unidad. Al fenómeno respiratorio se junta, pues, un fenómeno de desdoblamiento: una parte del gas carbónico no procede de una combustión directa.

Evidentemente hay motivo para aplicar a estos experimentos las

correcciones necesarias que se deducen de las precisas investigaciones de Maquenne y Demoussy.

Influencia de las radiaciones caloríficas y luminosas en la formación o en la destrucción de los ácidos.— Según Warburg (1886), las radiaciones luminosas no son indispensables para la desaparición de los ácidos en las hojas. La obscuridad prolongada, y sobre todo la elevación de la temperatura, producen el mismo efecto. Si se mantienen a unos 45° las hojas de plantas carnosas en la obscuridad, no se vuelven ácidas o su acidez es muy poca: a esta temperatura la respiración es muy activa, y no hay acidificación. Las hojas del *Bryophyllum calycinum* (crasuláceas) presentan su máximo de acidez a unos 13°; la curva de acidificación desciende rápidamente en el lado de las temperaturas más bajas y más lentamente en el otro lado. De manera que, por una parte a 0°, y por otra a 38°, la acidez es mínima. Este fenómeno particular de la acidificación, observado en una planta tropical, presenta un máximo situado mucho más bajo que cualquiera otra manifestación de la vida. Se deduce de esto que, en esta planta, la respiración debe ser casi nula a 0°, y que los cambios gaseosos con la atmósfera están casi suspendidos; mientras que a 38° la intensidad de las oxidaciones es tal, que los mismos ácidos son inmediatamente quemados. Sin embargo, la temperatura de acidificación máxima no es la misma en todas las plantas.

Por otra parte, la permanencia prolongada de una planta carnosa a la luz, aun de poca intensidad, determina en ella la desaparición progresiva de los ácidos orgánicos (luz eléctrica) (Aubert).

Todas las plantas cuya acidez disminuye a la luz presentan siempre la particularidad de estar igualmente protegidas contra la transpiración y de marchitarse con dificultad.

Existe, por lo demás, una notable relación entre la transpiración (fenómeno fisiológico dependiente de la presencia de ciertas radiaciones luminosas) y la existencia de ácidos en la hoja (de Vries, 1884; Aubert, 1892). La riqueza en ácido málico de las hojas de las crasuláceas crece a partir de la yema terminal hasta cierto punto del tallo en que las hojas han alcanzado el máximo de su desarrollo;

decrece en las hojas inferiores que principian a alterarse. pero nunca llega a ser nula. La cantidad de agua transpirada presenta un mínimo correspondiente al máximo de peso del ácido málico. Los ácidos orgánicos, por su presencia, se oponen a la transpiración de los órganos que las contienen y favorecen así su turgescencia. La superficie de las hojas, a igualdad de volumen, es menor en las crasuláceas, las mesembriantemeas y las cactáceas que en las plantas ordinarias: condiciones todas que son favorables a la adquisición y al mantenimiento de la turgescencia. La escasa emisión de vapor de agua en las plantas carnosas asoleadas reconoce, como causa principal, la ausencia de clorofila en el parénquima profundo de las hojas; la *clorovaporización*, es decir, la evaporación del agua atribuíble a la presencia de la clorofila (véase más adelante), no se efectúa más que en las regiones superficiales de la hoja (Aubert).

La parte menos refrangible del espectro actúa más enérgicamente sobre la desacidificación que la parte más refrangible. De todos modos, la acción de la luz azul es proporcionalmente más intensa sobre la desacidificación que sobre la descomposición del gas carbónico (Warburg).

Influencia de la composición de la atmósfera en la formación y la destrucción de los ácidos.—Una crasulácea puesta durante la noche en el gas hidrógeno no produce más que una pequeña cantidad de ácido málico, gracias a su atmósfera interna; se comprende que esta acidificación sea mínima, puesto que resulta de un fenómeno de oxidación.

La desacidificación está también enlazada con la presencia del oxígeno. En efecto, en una atmósfera no oxigenada no se observa más que una muy ligera destrucción de los ácidos por la acción del calor. Inversamente, se acelera la desacidificación favoreciendo el contacto del oxígeno con los elementos de la hoja ricos en ácidos: basta para ello cortar las hojas en fragmentos (Warburg).

La desacidificación a la luz es tanto menor cuanto más pobre en oxígeno es la atmósfera que rodea la hoja.

Es interesante estudiar la influencia de una atmósfera sobreoxigenada. Se observa entonces, en la obscuridad, en las hojas de las crasuláceas, la formación de una cantidad de ácido málico mayor que en el aire ordinario. Pero, a la luz, la acidez disminuye menos en una atmósfera sobreoxigenada que en el aire ordinario. Generalmente se observan en este

caso una absorción de oxígeno y un desprendimiento de gas carbónico (Astruc). Parece que se debe deducir de este experimento que la oxidación más enérgica que se produce en estas condiciones favorece la combustión total y rápida de los ácidos, y que el exceso del gas carbónico así desprendido no puede, faltando mucho para ello, ser descompuesto por la función clorofiliana.

Sobre algunas particularidades relativas a la producción y al papel del oxalato cálcico.—El oxalato cálcico, insoluble en el agua, entre todas las sales de ácidos orgánicos, es la más esparcida en el reino vegetal. Se encuentra no sólo en multitud de fanerógamas, sino también en las talofitas (algas, hongos), en los líquenes y en los helechos. Falta en los musgos.

Wehmer ha demostrado que el modo de nutrición influía mucho en la producción del ácido oxálico. Si se da azúcar y sales amoniacales a los hongos, no se forma ácido oxálico; lo que ocurre, por el contrario, cuando la fuente del nitrógeno ofrecido a estos vegetales es la peptona.

Se observa una particularidad semejante en las plantas superiores. Según Benecke, el nitrógeno suministrado al maíz en forma de nitratos favorece en esta planta la formación del oxalato cálcico; el nitrógeno en forma de sales amoniacales no determina más que un pequeño depósito de oxalato, aun cuando la planta vegete normalmente. Es difícil en la actualidad interpretar este hecho. Tal vez el oxígeno de los nitratos actúa entonces sobre los hidratos de carbono transformándolos en ácido oxálico.

Por lo general, debe considerarse el oxalato cálcico como un producto de excreción. Según Amar (1903), el estudio histológico de las plantas que contienen cristales de esta substancia enseña que ésta no aparece por vez primera más que en las hojas de individuos desarrollados mediante soluciones nutritivas que contengan cierta proporción mínima (variable con la especie estudiada) de nitrato cálcico. Los cristales de oxalato son cada vez más numerosos a medida que aumenta la proporción de nitrato.

Por lo tanto, la cal (en forma de nitrato), necesaria para el buen funcionamiento de la planta, es enteramente asimilada hasta cierta proporción que varía con la especie. Por encima de esta proporción es eliminada en forma de oxalato insoluble por ser inútil La formación del oxalato cálcico tendría por objeto la eliminación de la cal superflua más bien que la eliminación del ácido oxálico.

Sin embargo, el oxalato cálcico no debe ser considerado siempre como un simple producto de excreción En efecto, Tschirch ha observado que los cristales de esta substancia, contenidos en los granos de aleurona del altramuz, se disuelven poco a poco durante la ger-

minación. Es posible que, bajo la acción de la luz, los oxalatos se conviertan en agua y gas carbónico; este último sería entonces asimilado por la planta (Doby, 1909).

Resumen de la función respiratoria.—1.° La respiración es un cambio de gases que va acompañado de una combustión: la planta absorbe oxígeno y elimina gas carbónico.

2.° La respiración vegetal es un fenómeno muy complejo. Unas veces el volumen del oxígeno absorbido suministra un volumen igual de gas carbónico, otras veces el volumen del gas carbónico exhalado es inferior al del oxígeno absorbido: existen fenómenos de oxidación interna, tales como producción de ácidos orgánicos y fijación de oxígeno en los albuminoides con transformación de éstos en amidas. Generalmente, el volumen del gas carbónico exhalado es superior al del oxígeno absorbido, mientras el órgano no manifiesta señales de degeneración.

3.° El desprendimiento del gas carbónico no es siempre correlativo de una absorción concomitante de oxígeno. En una atmósfera desprovista de este último gas, el vegetal lucha contra la asfixia: toma la energía que entonces le es necesaria desdoblando ciertas substancias de las cuales solamente se desprende una parte del carbono en forma de gas carbónico (respiración intramolecular).

4.° De todos los factores exteriores cuya acción influye en el vegetal, la temperatura es el que ejerce una influencia más marcada: la cantidad de gas carbónico desprendido crece regularmente en este factor.

5.° Cuando se quieren estudiar con precisión las relaciones entre la absorción del oxígeno y la emisión del gas carbónico, es indispensable tener en cuenta la composición de la *atmósfera interna* del órgano considerado.

6.° La presencia casi constante de los ácidos vegetales (oxálico, málico, cítrico) en la planta está en íntima relación con los fenómenos respiratorios: a baja temperatura hay acidificación; por el contrario, los ácidos se destruyen de preferencia a temperatura elevada.

CAPÍTULO IX

DE LA MATERIA MINERAL Y DE LA COMPOSICIÓN MINERAL DE LOS VEGETALES

Substancias minerales que se encuentran en las cenizas.—Proporción de las cenizas contenidas en los diversos órganos de una planta.—Composición de las materias fijas obtenidas por la incineración. — Repartición de los diversos elementos de las cenizas en los distintos órganos de la planta.—Cultivos artificiales hechos en medios de composición conocida.—Papel fisiológico de los elementos minerales.—Papel especial de los iones en la actividad de los elementos minerales.

Importancia de la materia mineral; generalidades.— Hemos dicho, al principio del primer capítulo, que, cuando se destruye por el calor la *parte combustible del vegetal*, quedaba siempre, cualesquiera que fuesen el órgano o la planta considerados, una cantidad más o menos considerable de materia fija. ¿Es indispensable ésta para la vida vegetal? ¿Implica su constante presencia la necesidad de la planta de apoderarse de ella? Se puede afirmar que la vida vegetal sería imposible si ciertas substancias minerales fijas no fuesen puestas a disposición de los vegetales.

El medio natural en que éstos se desarrollan, el suelo, es de extrema complejidad; contiene en grados de división muy diferentes los restos de las más variadas rocas en un estado de descomposición más o menos avanzada. Por otra parte, la circulación del agua en la planta es intensa; esta agua lleva

consigo todas las substancias disueltas que encuentra en el suelo en estados variables de concentración. Se deduce de esto que desarrollándose una misma planta en dos suelos de constitución química y geológica diferente deberá suministrar por incineración elementos distintos. En realidad, es esto lo que ocurre, a lo menos en parte.

Pero, a pesar de las diferencias cualitativas y cuantitativas de composición mineral, existen en todas las cenizas vegetales ciertos elementos, que son *siempre los mismos,* cualquiera que sea la naturaleza del suelo examinado. La necesidad de estos elementos no sería, sin embargo, todavía evidente si los dos siguientes grupos de hechos no viniesen a demostrarla de una manera rigurosa.

Cuando no se proporciona a una semilla que germina más que aire y agua, la planta procedente de esta semilla, después de haber vegetado algún tiempo, que depende de la naturaleza y del peso de las reservas que la plantita pueda tomar de los cotiledones o del albumen, es incapaz de florecer y de fructificar. A los menos sus flores y sus frutos se desarrollan entonces *en forma enana;* cuando aparece un nuevo órgano, toma éste del órgano situado inmediatamente debajo de él las substancias que necesita, dejándolo marchito. Se observan fenómenos análogos aun si se pone a disposición de la planta un alimento nitrogenado. Falta, pues, algo al vegetal.

En segundo lugar, suministremos a esta planta mezquina e incompleta algunos de los elementos que contienen las cenizas de un vegetal semejante, que se haya desarrollado normalmente en un suelo conveniente. Observaremos entonces que las substancias fijas así añadidas modifican profundamente las condiciones de existencia de la planta incompleta. Esta evoluciona como lo haría un individuo de la misma especie situado en las condiciones habituales de un buen cultivo; florece y fructifica. Las semillas que produce son capaces de germinar y de reproducir un vegetal idéntico.

Ciertos elementos salinos, fijos, son, pues, indispensables, de la misma manera que el carbono y el nitrógeno.

El valor relativo de los elementos fijos se pone de mani-

fiesto mediante el *método de los cultivos en medios artificiales,* principalmente en medio líquido. Es fácil suministrar a la semilla que germina en el agua sola cada uno de los elementos fijos cuya presencia se ha comprobado en las cenizas de individuos semejantes normales. Se podrá hacer variar, a voluntad, la *proporción* de estos elementos, suprimir la adición totalmente en el momento que se quiera de la vegetación y determinar así su *valor relativo.*

El peso comparativo de la cosecha obtenida en este último caso, por una parte, y la de las plantas de la misma especie que han dado en un suelo de buena calidad resultados satisfactorios, por otra parte, indicará, si se aproximan o no los dos pesos, condiciones naturales de desarrollo.

Este método *sintético* ha prestado grandes servicios; ha permitido asignar a tal o cual elemento un papel bien definido en la nutrición; su empleo da resultados seguros, porque siempre es fácil encontrar la substancia puesta a disposición de la planta, ya sea en sus tejidos, ya en el líquido de cultivo.

Es esencial observar aquí que un vegetal determinado nunca tiene en todas sus partes la misma composición mineral. Esta varía principalmente con la naturaleza del suelo en que el vegetal se desarrolla, con la mayor o menor riqueza del suelo en elementos fertilizantes, con la cantidad y la naturaleza de los abonos que han sido puestos a su disposición. Además, en un mismo suelo, la misma planta podrá contener, según sea el año considerado, proporciones variables de tal o cual elemento fijo. Esta variabilidad procede de las diferencias que presentan, de un año a otro, los factores exteriores siguientes: cantidades de agua retenidas por el suelo, temperatura media, grado de iluminación. Resulta de ello que, si se quieren formular conclusiones sobre la marcha de un fenómeno fisiológico, es necesario indicar siempre la naturaleza del terreno en que la planta se ha desarrollado. así como todos los datos meteorológicos referentes al año considerado. Se ve, pues, que conviene no utilizar más que con mucha prudencia las *tablas de análisis de las cenizas vegetales* que dan sólo un término medio de la composición centesimal de los elementos salinos Las cifras que han servido para calcular este término medio presentan a menudo entre sí enormes diferencias, porque han sido obtenidas mediante análisis a veces mediocres y en circunstancias que, la mayor parte de las veces, no han sido definidas.

I

SUBSTANCIAS MINERALES QUE SE ENCUENTRAN EN LAS CENIZAS

Las substancias que se encuentran en las cenizas, a lo menos en la inmensa mayoría de casos, son las diez siguientes: *ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico* (estos ácidos están combinados con bases), *sílice, potasa, cal, magnesia, óxido de hierro, sosa, óxido de manganeso.* La sílice y la sosa pueden faltar, a veces, casi por completo. Entre estas substancias algunas sólo se hallan en pequeñas cantidades: óxidos de hierro y de manganeso.

Independientemente de los cuerpos precedentes, se encuentran también indicios de: fluor, yodo, ácido titánico, aluminio, rubidio, cesio, zinc, cobre, boro, etc., formando parte de diversos compuestos. Tal vez, con los progresos de la química analítica, se llegará a encontrar estas substancias en todas las plantas. Su pequeña cantidad no implica forzosamente la idea de que estas materias sean inútiles: se sabe, en efecto, que el manganeso, cuya presencia ha sido durante largo tiempo considerada como accidental, desempeña un papel capital en la constitución de los fermentos oxidantes (pág. 144).

Por otra parte, es indispensable observar que, muy a menudo, no podría haber *a priori* relación entre la utilidad de un elemento y la proporción en que se encuentra en el vegetal. Mazé hace observar que, si ciertas substancias, consideradas como absolutamente perjudiciales, son puestas a disposición de la planta en cantidades cada vez más pequeñas, acaban por perder toda toxicidad y aun provocan una acción marcadamente *estimulante* y *excitante.* De donde se deduce que los diversos elementos raros de las plantas desempeñan, tal vez, simplemente el papel de estimulantes en ellas.

Esto es lo que resulta de las investigaciones de Vœlker acerca del empleo del bromuro y del yoduro sódicos. Estas sales, en cantidad algo apreciable, incorporadas al suelo en el momento en que la semilla está en vías de desarrollo, retardan mucho la vegetación.

Pero, en indicios, como pueden existir en las semillas inmergidas durante diez minutos en una solución al 1 por 100 antes de su siembra, las dos sales citadas actúan como estimulantes y favorecen la vegetación. Este hecho ha sido comprobado en la cebada.

Lo que a veces hace difícil la interpretación de los resultados de un análisis de cenizas, es que ciertos elementos son tanto más abundantes en ellas cuanto mayor es la proporción en que están contenidos en el suelo en que vegeta la planta; tal es el caso de la potasa, que se acumula a menudo en cantidades considerables sin provecho para el vegetal; lo mismo ocurre con la sosa, base frecuente en los vegetales que viven en las orillas del mar.

La planta hace en el suelo ciertas *selecciones;* pero, por el contrario, hay substancias que absorbe porque son atraídas por simple evaporación: su papel es obscuro, si no es nulo.

Se deduce de todo esto que el análisis químico no suministra siempre informes exactos sobre las necesidades reales del vegetal.

Vamos a estudiar las propiedades y el papel de la materia mineral en el orden siguiente:

1.° *Proporciones de las cenizas contenidas en los diversos órganos de una planta;* 2.°, *composición de las cenizas;* 3.°, *repartición de los diversos elementos de las cenizas en los diversos órganos;* 4.°, *cultivos artificiales hechos en medios de composición conocida.* El orden en que estudiaremos estos distintos temas es el que ha sido adoptado desde hace mucho tiempo por Dehérain.

1.° PROPORCIONES DE CENIZAS CONTENIDAS EN LOS DIVERSOS ÓRGANOS DE UNA PLANTA

La verdadera cantidad de materia fija que *debería* existir en un órgano dado de una planta no es conocida con certeza. Cuando incineramos un órgano, el peso de las cenizas que obtenemos corresponde, por una parte, a substancias fijas que desempeñan un papel fisiológico determinado y de las cuales cierta cantidad *mínima* es indispensable para la vida del órgano, y, por otra, a un exceso variable de estas mismas substancias fijas que se han almacenado sin provecho para el desarrollo del órgano considerado. De manera que, en el examen del punto especial en que nos ocupamos, no se puede

tratar más que de un *término medio* deducido de un gran número de análisis.

Lo que acabamos de decir, relativamente a la variabilidad del peso de las cenizas, es especialmente exacto para un elemento, el sodio, que se encuentra, en gran número de vegetales, en proporciones muy diversas. El sodio no parece ser, en la mayoría de los casos, una substancia indispensable para la existencia de los vegetales superiores, a la inversa de lo que ocurre en los animales. La composición del medio natural en que la planta extiende sus raíces interviene, pues, en primer término para modificar más o menos el peso de las materias salinas que absorbe la planta y, por consiguiente, el peso de sus cenizas.

Sería necesario hacer un gran número de ensayos para fijar de una manera definitiva cuál es la cantidad mínima de cada cuerpo simple metálico necesario para el completo desarrollo de una planta determinada. Experimentos de esta clase no solamente exigirían mucho tiempo, sino que no permitirían formular de algún modo conclusiones matemáticas más que si se pudiesen realizar condiciones de temperatura y de iluminación absolutamente uniformes. Sin embargo, han sido intentados con éxito en algunos organismos inferiores.

El examen detenido de las relaciones ponderales entre la materia mineral y la materia orgánica de un vegetal ha sido igualmente objeto de estudios especiales, hechos respecto de plantas superiores solamente. Diremos de ellos algo en el último capítulo de esta obra. (1)

Cenizas de las semillas.—La proporción centesimal de las cenizas respecto de la materia seca de la semilla es bastante variable en la misma planta, según la especie considerada y el método de cultivo.

No citaremos aquí más que algunos ejemplos tomados entre las plantas más comunes:

(1) Se encontrará el análisis de las cenizas de gran número de plantas consultando las tablas de Wolff (*Aschen-Analysen*, Berlín, 1871 y 1880), o bien la obra de J. König: *Chemische Zusammensetzung der menschlischen Nahrung-und Genussmittel*, Berlín, 1903 y 1904.

Cenizas en 100 partes de materia seca

Trigo. . .	1,9 a 2,4	*Brassica rapa*.	3,95	*Larix decidua* . .	2,29
Avena. . .	2,07	*Brassica napus*	3,97	Roble . .	1,73
Centeno . .	2,09	Altramuz blanco	3,40	Aliso . .	2,08
Cebada . .	1,99	Judías blancas .	3,22	Abedul. .	3,78
Maíz . . .	1,25	Phaselus multiflorus . . .	4,09	Haya . .	2,54
Arroz. . .	1,22	Guisante . . .	3,25	Castaño .	2,38
Alforjón . .	1,73	Topinambur . .	2,80	Almendro .	4,90
Adormidera .	6,04	Achicoria. . .	6,21	Castaño de Indias .	2,36
Cañamones .	5,20	*Pinus silvestris*	5,95	Café. . .	3,19
Linaza. . .	3,69	*Pinus excelsa* .	5,80		
Sinapis alba	4,57	*Pinus laricio* .	2,76		
Sinapis nigra	4,98				

Cenizas de las raíces.—En general están en menos cantidad que las cenizas que suministran los órganos aéreos; Así las raíces de *nabo* dejan, para 100 partes de materia seca, 8 partes de cenizas, y las hojas 13 partes; las raíces del *tabaco* 7 partes, las hojas 23 partes; las raíces de *mostaza blanca* 10,9 partes, los tallos 20,3 y las hojas 22,1 partes.

Generalmente las cenizas disminuyen con la edad, cuando se refiere el peso de las cenizas a 100 partes de materia seca. Así se tiene:

		Cenizas por 100 de materia seca	Aumento del peso seco de una raíz gr.
Trigo (sembrado en 19 marzo de 1898)	1.° de junio. .	22,31	0,156
	20 — . .	16.05	0,200
	11 de julio . .	14,89	0,276
	25 — . .	10,25	0,372
Mostaza blanca (sembrada en 13 de mayo de 1898)	14 de junio . .	15,87	0,0574
	23 — . .	6,99	0,1406
	25 de julio . .	5,82	0,1975
Castaño de Indias (sembrado en febrero de 1905)	30 de mayo . .	12,30	1,217
	4 de julio . .	6,69	3,360
	11 de agosto. .	4,31	5,136

En cuanto al peso *absoluto* de las cenizas, disminuye a veces con la edad de la raíz. En algunos casos este peso varía poco, en otros, como en el ejemplo que sigue, aumenta en grandes proporciones, mientras que el peso *relativo* disminuye.

		Peso de la materia seca de 100 raíces gr.	Cenizas totales. gr.	Cenizas en 100 partes de materia seca
Clavel	13 junio de 1910 . .	32,85	5,82	17,71
	28 — (formación de las yemas florales).	193,12	22,03	11,40
	13 julio (florescencia)	416,00	40,26	9,67
	9 de agosto (frutos casi maduros) . .	545,16	40,17	7,37
	23 de agosto (madurez completa) . . .	655,40	51,71	7,86

Es indispensable observar aquí que muchos análisis de cenizas estan falseados a causa de la extremada dificultad que se encuentra cuando se trata de eliminar los últimos indicios de la tierra adherida. Ocurre esto especialmente en el caso de las raíces fibrosas, como las de las gramíneas.

Cenizas de los órganos subterráneos.—Los bulbos, los tubérculos y los rizomas contienen, en general, una cantidad de cenizas parecida a la que se observa en las semillas. Se ha encontrado en 100 partes de materia seca:

Bulbos de cebolla, 5,28; bulbos de asfodelo, 3,90; bulbos de *Orchis*, 2,04; rizoma de *Iris germanica*, 3,64; rizoma de *Curcuma*, 7,07; rizoma de jengibre, 4,8; tubérculos de patata, 3,8; tubérculos de topinambur, 5,8; pastinaca cultivada, 4,80; zanahorias, 5,47; remolacha azucarera, de 4,4 a 6,7.

Cenizas de los tallos.—La proporción centesimal de las cenizas disminuye, en general, con la edad del tallo herbáceo. He aquí algunos ejemplos.

		Cenizas por 100 de materia seca	Aumento del peso seco de un tallo gr.
Trigo . . .	1.° de junio. . .	15,52	0,664
	20 — . .	12,55	2,390
	11 de julio . . .	7,77	4,400
	25 — . .	8,97	5,700
Mostaza blanca.	22 de junio . . .	20,30	0,315
	6 de julio . . .	11,03	0,934
	26 — . .	7,08	1,550

Entre el 30 de mayo y el 25 de septiembre las cenizas del castaño de Indias, sembrado el mismo año, variaban de 5,39

a 3,56 (para 100 partes de materia seca), mientras que el peso seco de un tallo pasaba de 1,16 gr. a 6,01 gr. en el mismo intervalo de tiempo.

En realidad, el *peso absoluto* de las cenizas del tallo aumenta de una manera continua. Si la proporción centesimal de las cenizas disminuye, esto es debido a que el peso de las materias orgánicas aumenta más rápidamente que el de la materia mineral. Cuando se quiere ver claramente la cantidad exacta de cenizas contenida en un órgano, es necesario referir esta cantidad a 1000 partes, por ejemplo, de cenizas de la planta total. He aquí lo que resulta del examen de los tallos de *colza* (I. Pierre):

	Cenizas referidas a 1 kilogramo de materia seca		Cenizas referidas a 1 Kg. de cenizas de la planta total	
	Tallos gr.	Ramas floríferas gr.	Tallos gr.	Ramas floríferas gr.
22 de marzo de 1859 . .	95,2	102,8	224	53
2 de abril (florescencia) .				71
6 de marzo (planta desflorecida)	92,7	98,6	271	137
	71,8	86,7	295	324
6 de junio (fructificación).	72,1	77,3	269	569
10 de junio (maduración).	67,2	75,2	302	

Se ve, pues, que en realidad hay un aumento continuo de las cenizas; este aumento es poco acentuado en los tallos propiamente dichos; es considerable en las ramas floríferas.

Al principio de la vegetación la mayor parte de las materias salinas está, pues, concentrada en las hojas.

Citemos además el siguiente ejemplo, relativo a las cenizas de los tallos del clavel. Las tomas de muestras fueron hechas en las mismas épocas que las de las raíces (véase antes):

	Peso de la materia seca de los tallos de 100 plantas gr.	Cenizas totales gr.	Cenizas por 100 de materia seca gr.
I.	57,85	14,11	24,39
II.	698,43	90,65	12,98
III.	1 787,20	173,35	9,69
IV.	2 385,20	170,30	7,14
V.	2 947,30	229,88	7,79

Según Garreau, las cenizas se acumulan en los tallos herbáceos hasta la época de la florescencia; disminuyen en estos órganos hasta la maduración de las semillas.

Cenizas, por 100 de materia seca, en:

	Trigo	Maíz	Habichuela
Tallo muy joven	3,6	5,3	4,0
— de 30 días	7,8	9,5	9,0
— 15 días antes de la florescencia .	8,5	12,7	12,6
— durante la florescencia . . .	6,2	9,4	10,75
— en la maduración	5,0	9,3	8,00

Cenizas del leño y de la corteza. — El leño es poco rico en cenizas; la corteza lo es más. Las cenizas del leño representan, por lo general, de 0,5 a 1 por 100 del peso de la materia seca, mientras que las de la corteza son veinte y treinta veces mayores. Esto es aplicable a los árboles no demasiado jóvenes.

He aquí la proporción, para 100 partes de la materia seca, de las cenizas de un haya de noventa y cuatro años en las diferentes capas concéntricas anuales:

Capas .	1-15	15-25	25-35	35-45	45-60	60-83	83-94
Cenizas.	1,15	0,82	0,64	0,61	0,55	0,45	0,20

(Zimmermann, 1893.)

	Cenizas	
	en la corteza	en el leño
Prunus Mahaleb	6,81	1,38
Cerasus avium	9,76	0,23
Serbus aria	»	1,06
Pinus larix	»	0,32
Quercus robur	5,6	0,28

La *albura* contiene doble o triple cantidad de cenizas que el duramen.

En las ramas muy jóvenes las diferencias son mucho menos acentuadas. Así, una rama de castaño de Indias del año ha dado: cenizas del leño, 1,58; cenizas de la corteza, 6,78.

El peso de las cenizas del leño sólo experimenta pequeñas oscilaciones en las diferentes épocas del año.

Cenizas de las hojas.—Se puede decir, de una manera general, que la proporción de las cenizas que dan las hojas siempre es mayor que la de los demás órganos.

Trigo	Tallos	Hojas	Castaño de Indias del año	Tallos	Hojas	
1.º junio .	15,52	15,80	30 mayo .	5,39	15,31	P. 100 de materia seca
20 — .	12,55	16,05	4 julio .	6,09	14,55	
11 julio .	7,77	15,18	11 agosto.	3,72	12,83	
28 — .	8,97	13,82	25 sept. .	3,56	17,78	

La cantidad de cenizas aumenta, con bastante frecuencia, con la edad de la hoja. Garreau ha encontrado que las materias minerales fijas contenidas en las hojas de una rama del año, recolectadas el 30 de septiembre, dan las siguientes cifras, referidas a 100 gramos de materia seca (partiendo de la base de la rama):

	1.ª hoja	2.ª hoja	3.ª hoja	4.ª hoja	5.ª hoja	6.ª hoja	7.ª hoja	8.ª hoja
Tilo .	9,30	9,30	8,75	8,70	8;70	8,00	7,85	7,60
Olmo.	16,00	15,30	16,10	13,20	12,60	11,70	11,00	9,50

Las hojas de las plantas herbáceas dan a veces el mismo resultado:

Lysimachia vulgaris	1.er verticilo.	15,00	*Aristolochia clematitis*	Las 3 primeras hojas del eje.	9,65
	5.º —	11,49			
	9.º —	9,96		Las 3 últimas hojas del eje.	7,44

		Peso de la materia seca de las hojas de 100 plantas gr.	Cenizas totales gr.	Cenizas por 100 de la materia seca gr.
Clavel (en las mismas épocas que anteriormente)	I. . . .	287,55	66,75	23,21
	II. . . .	791,25	169,72	21,44
	III. . . .	1 134,82	301,30	26,54
	IV. . . .	1 367,28	436,43	31.91
	V. . . .	1 269,85	413,08	32,53

En este último ejemplo el peso de las cenizas de la hoja aumenta tanto en proporción absoluta como en proporción relativa.

A veces, por el contrario, las cenizas disminuyen ligeramente con la edad; como la asimilación de la materia mineral es continua, demuestra esto que la materia orgánica aumenta más rápidamente que la materia mineral.

Existen numerosos ejemplos en que la cantidad de cenizas de las hojas varía muy poco en las plantas herbáceas desde el principio hasta el fin de la vegetación. Ocurre esto en los vegetales cuyas hojas experimentan con el tiempo una disminución de su facultad asimiladora.

Las hojas de las plantas acuáticas sumergidas, que se hallan al abrigo de toda evaporación, dan residuos salinos tanto más abundantes cuanto mayor es su edad:

Ranunculus aquatilis	Hojas de la parte media del eje .	28,0	*Hippuris vulgaris*	Hojas de la parte media	16,5
	Hojas de la parte superior . . .	12,5		Hojas de la parte superior . . .	11,5

(Garreau.)

Las hojas de las plantas carnosas *(saxífragas, Sempervivum, Sedum)* contienen generalmente muchas cenizas, y sin embargo transpiran poco. Las materias fijas se acumulan en ellas tanto más cuanto más viejo es el órgano.

Por otra parte, la riqueza en materia mineral varía mucho en las hojas de una misma planta según sean el procedimiento de cultivo y las condiciones climatológicas. Entre las hojas menos cargadas de materia mineral deben citarse las hojas aciculares de las coníferas. En las del *pino negro de Austria,* que duran muchos años, la materia mineral aumenta con la edad (Fliche y Grandeau): las hojas del año, 1,91 (por 100 de materia seca); las de un año, 2,30; las de dos años, 2,86: las de tres años, 3,82; las de cuatro años, 4,55.

Se comprende que se puedan observar, en la riqueza en materia mineral de las hojas, grandes oscilaciones, y que no pueda formularse una regla general del aumento o de la disminución de los elementos fijos. En efecto, las hojas son órganos que transpiran mucho; de esta transpiración depende la ascensión de las substancias salinas. Según que la intensidad de la radiación solar sea más o menos considerable en tal o cual momento de la vegetación, las hojas se cargarán de una cantidad u otra de materia fija.

Cenizas de las setas comestibles y venenosas.—El

peso de sus cenizas es extremadamente variable de un género a otro y de una especie a otra. Las cifras extremas están comprendidas entre 4 y 15 por 100 de la materia seca.

2.° COMPOSICIÓN DE LAS MATERIAS FIJAS OBTENIDAS EN LA INCINERACIÓN

La acción del calor sobre los tejidos vegetales no destruye solamente las materias hidrocarbonadas y nitrogenadas, sino que modifica profundamente la naturaleza de la materia mineral. Esta está en gran parte asociada con substancias orgánicas en las combinaciones que sólo la vida de la célula puede realizar y que, por consiguiente, desaparecen cuando desaparece el elemento orgánico. Así es que los jugos vegetales son, normalmente, muy ligeramente ácidos o neutros, mientras que, en general, las cenizas tratadas con agua presentan reacción fuertemente alcalina. Esta alcalinidad es debida a la presencia del carbonato potásico, que nunca existe formado en la planta, pero que se forma en la descomposición por la acción del calor de los oxalatos, malatos, citratos y tartratos alcalinos contenidos en tales o cuales células del organismo vegetal.

La *composición* de las cenizas varía ciertamente con la naturaleza del suelo donde crece la planta; pero, se encuentran siempre en las cenizas ciertos elementos que deben considerarse como indispensables para la existencia de los seres que las contienen.

Distinguiremos en las cenizas dos clases de elementos: los elementos *ácidos* y los elementos *básicos*.

Elementos ácidos.—*Ácido carbónico.*—La mayor parte de este ácido procede, como acabamos de decir, de la acción del calor sobre ciertas sales orgánicas (oxalatos, etc.). Sin embargo, el ácido carbónico existe normalmente en muchos órganos, sobre todo en las hojas, en estado de carbonato cálcico, cuyo origen debe buscarse en la descomposición del bicarbonato cálcico.

Sílice.—La presencia de este ácido es constante en las cenizas de casi todos los órganos vegetales: se encuentran indicios en las semillas; es especialmente abundante en los tallos de las gramíneas y en las hojas viejas. Su repartición es muy desigual, porque, en un mismo órgano y en diferentes vegetales (sobre todo en los tallos), su proporción varía entre límites muy amplios.

El papel de la sílice es muy obscuro, y veremos más adelante que, si una parte de este elemento parece formar una especie de combinación con ciertos principios inmediatos del vegetal (celulosa), otra parte parece que se deposita, principalmente en las hojas, por simple evaporación.

Acido fosfórico.—La repartición de este ácido, que existe en todos los órganos vegetales, es muy desigual: sin embargo, sigue una ley general, que es la siguiente: Todos los órganos jóvenes lo contienen en bastante abundancia; a medida que estos órganos envejecen, el ácido fosfórico los abandona y va a concentrarse en las semillas o en los órganos subterráneos de reserva. En las plantas leñosas, frecuentemente se ve que el ácido fosfórico emigra de las hojas en el momento de su caída al leño, donde constituye una reserva para el desarrollo de las yemas del año próximo. La *migración* del nitrógeno, por lo general, está íntimamente relacionada con la del ácido fosfórico.

Una parte importante del ácido fosfórico encontrado en las cenizas procede de la destrucción por el calor de compuestos fosforados complejos (lecitinas, nucleínas, fosfátidos).

Acido sulfúrico. — La constante presencia de este ácido en las cenizas es un notable ejemplo de las modificaciones que produce la incineración en los tejidos vegetales. En efecto, en la planta viva no existen generalmente sulfatos *minerales* más que en indicios. El ácido sulfúrico que se encuentra después de la incineración procede de la destrucción, con oxidación, de las materias albuminoides, en cuyo núcleo se halla siempre un principio orgánico sulfurado.

Acido clorhídrico. — Se le encuentra en las cenizas en forma de cloruros (potásico, sódico). Preexiste también, por otra parte, en la planta viva en forma de cloruros. No se han

encontrado todavía en una planta compuestos clorados orgánicos.

El cloruro sódico, nocivo para la mayoría de los vegetales terrestres cuando existe en demasiada abundancia, no ejerce acción tóxica cuando sólo se halla en el suelo en pequeñas proporciones. Por lo demás, si la mayor parte de las plantas marinas, y de las que viven en los terrenos más o menos salados de las orillas del mar, pueden absorberlo, muchas plantas terrestres no lo absorben, y el cloro que se halla normalmente en ellas está en forma de cloruro potásico.

Se deben a Cloëz investigaciones que tienden a demostrar que, si un vegetal que vive de ordinario en las orillas del mar *(Crambe maritima)* contiene notables cantidades de sal común en sus cenizas, el mismo vegetal, plantado lejos de su punto de origen, da cenizas pobres en cloruro sódico. Sin embargo, es posible, según ha hecho notar Péligot, que la gran cantidad de sal común encontrada en las cenizas de una planta que vive en las orillas del mar procede, no de los mismos tejidos sometidos a la incineración, sino de la presencia de una especie de cubierta salada, adherida a las hojas, a las cuales esta sal sería llevada por los vientos de mar que arrastran consigo incesantemente pequeñas cantidades de esta substancia.

Cloëz ha demostrado también que una planta, que vive de ordinario en el interior, y que no contiene en sus cenizas más que una pequeña cantidad de sal común, puede contener cantidades mucho mayores de ésta si se cultiva en la orilla del mar. La observación de Péligot es aún valedera en este caso. Sin embargo, la mayor absorción de cloruros, en el caso de las plantas cultivadas o que viven habitualmente en las orillas del mar, es perfectamente admisible; en efecto, aun en el interior existen ciertos vegetales más aptos que otros para apoderarse del cloruro sódico.

Elementos básicos.—*Potasa.* — Esta base, llamada a menudo *álcali terrestre,* en oposición a la sosa, que frecuentemente ha sido considerada como el *álcali marino* por exce-

lencia, existe en todos los vegetales sin excepción, aun en aquellos que sólo se desarrollan en el seno de las aguas del mar. Se halla repartida bastante desigualmente en todos los órganos de la planta; se acumula en cantidades considerables en la semilla.

Sosa. — Las investigaciones de Péligot han demostrado que esta base era mucho menos común en las cenizas de lo que antes se creía. Faltaría casi siempre en el trigo (semillas y paja), la avena, la patata, los leños de hojaranzo y roble, las hojas de tabaco, de moral, de *peonia* de ricino, la habichuela, la pastinaca, etc. Las plantas pertenecientes a las familias de las *atriplíceas* y de las *quenopodiáceas* contienen notables cantidades en forma de cloruro; de todas maneras, el *Chenopodium quinoa* y la espinaca carecen de ella. Se encuentra normalmente en la remolacha y en las plantas marinas *(Fucus, Laminaria).*

Dehérain ha señalado el curioso hecho de que patatas, cultivadas en pleno campo y regadas durante el período de su crecimiento con soluciones de diversas sales sódicas, no contenían sosa en sus cenizas: la misma planta, cultivada en macetas, la contiene si se riega con soluciones débiles, pero repetidas veces, de sales sódicas. La habichuela se comporta, en pleno campo, como las patatas: no absorbe sosa. Pero, cultivada en macetas y regada con una solución de sal común en cantidad suficiente para producir su muerte, da cenizas muy ricas en cloruro potásico y exentas de cloruro sódico. Según Péligot, ocurriría una doble descomposición en el suelo entre el cloruro sódico y las sales potásicas: éstas serían finalmente absorbidas con exclusión de la sal común. Sin embargo, es conveniente observar que, si ciertas plantas se desarrollan en un suelo muy pobre en potasa, pero que contenga sosa o que haya recibido abonos que la contengan, estas plantas pueden dar cenizas en que se encuentre este último álcali. Este existe siempre en cantidades menores que la potasa, aun cuando el peso de las sales sódicas ofrecidas a la planta sea muy superior al de la potasa (Pagnoul).

Se puede admitir que este hecho es general: un vegetal que se desarrolla en un medio pobre en potasa, absorbe cierta

cantidad de sosa de que no se habría apoderado en el caso de existir una proporción mayor de potasa en el suelo.

Citemos, además, las dos observaciones siguientes, relativas a la presencia en el suelo de grandes cantidades de sal común que han determinado la ascensión en el vegetal de una gran cantidad de cloruro potásico.

Berthault y Crochetelle (1895) han observado que un trigo, desarrollado en una tierra salada de Argelia, había absorbido sin morir enormes proporciones de cloruro potásico (1,24 en 1000 partes de la materia seca de toda la planta). Los nudos de la parte media del tallo estaban cubiertos de cristalizaciones de este cloruro (7,18 en 1000 de materia seca). Pero, los citados autores añaden que ésta es una causa de retardo de la actividad vegetal que se manifiesta por una disminución de la cantidad y de la calidad del producto.

El vino procedente de cepas plantadas en tierras salobres (Argelia) puede contener proporciones anormales de cloruro potásico, que podrían inducir a creer, en vista de un simple análisis del cloro total, en una adición fraudulenta de sal común destinada a conservarlo (Berthault y Crochetelle). Bonjean ha encontrado en vinos auténticos, procedentes de las regiones salobres de Orán, cantidades de cloro a menudo considerables, que variaban de 0,31 a 4,50 gr. por litro. El cloro estaba combinado a la vez con el potasio y con el sodio.

Hierro.—El óxido de hierro se halla constantemente en las cenizas, pero se encuentra siempre en pequeñas proporciones. Se puede decir que todos los suelos contienen bastante hierro para subvenir a las necesidades muy limitadas de los vegetales respecto de este elemento. Se ha comprobado a menudo que la *clorosis* de las plantas desaparecía por efecto de la aplicación de un abono ferruginoso al suelo; sin embargo, las cenizas de la clorofila no contienen hierro. Atribuída a la excesiva riqueza del suelo en calcáreo, la clorosis es debida a la insolubilización del hierro por el carbonato cálcico (Mazé, Ruot y Lemoigne, 1912). Existen en los vegetales algunas *nucleínas* (pág. 258), que son ferruginosas.

Manganeso.—Del mismo modo que el hierro, se halla el manganeso en todas las cenizas. Desempeña un papel especial en la constitución de las *oxidasas* (véase pág. 146).

Magnesia.—En estado de carbonato y de fosfato en las cenizas, esta base desempeña un papel indispensable. En

efecto, las cenizas de las semillas contienen generalmente mucha más magnesia que cal.

Cal. — La presencia de esta base es constante en las cenizas de todos los vegetales; únicamente algunas plantas inferiores pueden desarrollarse en ausencia de esta base. El líquido de Raulin, tan empleado en el cultivo de los microorganismos, no la contiene. Bœhm atribuye a esta substancia un papel importante en la germinación (véase pág. 306): en las soluciones o en los medios exentos de cal las semillas vacían mal sus cotiledones.

El papel de la cal es difícil de definir, porque algunos vegetales que crecen en terrenos silíceos, pobres en calcáreo y hasta completamente desprovistos de esta materia, dan a menudo cenizas que contienen una notable proporción de cal. La mayoría de las plantas calificadas de *silicícolas* no son en realidad más que *calcífugas*. Sin embargo, son aptas para apoderarse de los menores indicios de cal, como se puede observar en los vegetales que viven en los suelos graníticos, pobres de cal.

Entre las anomalías que presenta la distribución de cal en las cenizas, se puede citar el siguiente caso observado por Fliche y Grandeau (1877). Estos autores han analizado comparativamente las cenizas de una rama de *pino marítimo* que se desarrolla bien en terrenos poco calcáreos y las de una rama del mismo árbol mal desarrollado en un suelo muy calcáreo. Comparan estas cenizas con las de una rama de *pino Laricio* que vegeta bien en un suelo calcáreo. He aquí el resultado obtenido:

		Pino marítimo bien desarrollado	Pino marítimo mal desarrollado	Pino Laricio
En 100 partes de cenizas.	Cal.	40,2	56,1	49,1
	Potasa.	16,0	4,95	13,5

Se observará que el pino bien desarrollado en un suelo poco calcáreo toma una cantidad considerable de cal, que no difiere mucho de la que ha tomado el pino mal desarrollado, y de la que toma el pino Laricio en un suelo muy calcáreo. Según los autores antes citados, el mal estado de la vegetación del pino marítimo desarrollado en un suelo calcáreo sería debido a la escasa absorción de potasa observada en esta muestra.

Por otra parte, cuando el análisis demuestra que una planta contiene normalmente poca cal, no se deduce de ello que pueda vivir en terrenos muy pobres en este elemento. El trigo, por ejemplo, contiene poca cal; su cultivo en un terreno granítico reclama una adición de cal.

Malaguti y Durocher (1858) han dado el siguiente ejemplo de la influencia química de los suelos calcáreos. He aquí cuáles son las proporciones centesimales de cal en las cenizas de las mismas plantas crecidas en un suelo calcáreo y en un suelo no calcáreo:

	Suelo calcáreo	Suelo no calcáreo
Crucíferas (media). . . .	35,8	20,1
Leguminosas	40,2	28,1
Dipsáceas	38,5	20,6
Salicíneas	68,8	51,1

Estos autores añaden que ciertas plantas que, en una comarca, parecen propias de los terrenos calcáreos, se hallan, en otros países, en terrenos diferentes. La influencia química del suelo no parece, pues, desempeñar un papel absoluto. Cuando estas plantas cambian de clima y se encuentran, por consiguiente, en condiciones físicas distintas, pueden no tener ya las mismas necesidades de cal respecto de su desarrollo.

Alúmina.—Esta base es extremadamente común en los suelos en forma de diversos silicatos y, sobre todo, de silicato doble de aluminio y potasio en los suelos arcillosos. Se encuentra en las cenizas de gran número de plantas, pero no parece desempeñar ningún papel especial. En efecto, puede faltar en los medios artificiales de cultivo sin que la planta que se desarrolla en ellos sufra perjuicio alguno. Las cenizas de la madera son ricas en alúmina; algunas *licopodiáceas* contienen grandes cantidades. La raíz generalmente es más rica en alúmina que los demás órganos del vegetal.

En un importante trabajo publicado en los *Annales de la science agronomique française et étrangère* (1907), Pellet y Fribourg han condensado todos los resultados conocidos hasta ahora relativamente a la presencia de la alúmina en numerosos vegetales. Esta base ha sido encontrada en las hojas y en los tallos de muchas plantas. Según estos autores, la remolacha sana (raíces y hojas) no la contendría en cantidades apreciables; la misma observación se aplica a las

cenizas de la caña de azúcar. Si bien la alúmina es constante en las cenizas de ciertas plantas, se ignora totalmente su papel fisiológico.

Según Kratzmann (1913), la alúmina estaría muy esparcida en el reino vegetal. Algunas plantas serían especialmente ricas en esta substancia. Varias de ellas poseerían un poder selectivo respecto de la alúmina.

3.° REPARTICIÓN DE LOS ELEMENTOS DE LAS CENIZAS EN LOS DIVERSOS ÓRGANOS DE LA PLANTA

Semillas. — He aquí la composición centesimal de las cenizas de algunas semillas. No incluímos en ella la sílice, que siempre existe en cantidad variable si bien que pequeña, ni el ácido carbónico, ni el cloro, ni el óxido de hierro. Sin embargo, estos dos últimos elementos son constantes, se les encuentra en la proporción ordinaria de 0,5 a 1 por 100 de la materia seca. En cuanto a la sosa, algunas semillas la contienen; pero, muchos análisis antiguos hacen figurar equivocadamente esta base entre los elementos normales de las cenizas. Se observará, en el adjunto cuadro, que el ácido fosfórico y la potasa forman, a menudo, del 60 al 80 por 100 del peso de las cenizas y que la magnesia ordinariamente es más abundante que la cal:

	K^2O	CaO	MgO	P^2O^5	SO^3
Trigo de invierno . . .	28,5	3,5	11,5	49,7	1,2
— verano . . .	32,7	3,2	13,0	47,2	0,3
Avena.	27,9	7,4	10,1	47,7	»
Centeno	32,1	3,8	10,1	49,4	1,4
Mostaza blanca . . .	25,7	15,7	9,5	38,4	8,2
— negra . . .	23,6	14,9	11,6	40,9	6,1
Habichuela blanca . .	45,0	6,0	5,9	38,0	3,3
Phaseolus multiflorus.	51,3	2,6	8,4	30,6	»
Guisante	43,1	4,7	7,9	35,9	1,1
Remolacha	24,5	22,9	16,1	16,6	4,4
Alforjón	26,3	2,8	14,1	46,7	2,0
Adormidera	13,6	35,3	9,5	31,3	1,9
Cáñamo	21,7	26,7	1,0	34,8	0,2
Linaza	28,8	8,5	13,6	44,7	0,1
Castaño	56,6	3,8	7,4	18,1	3,8
Ciruelo	26,5	8,4	16,1	34,8	7,1

Los análisis por separado del *embrión* y de los *cotiledones* o del *endospermo* presentan a menudo diferencias notables.

Se encontrarán en las tablas de Wolff y en la obra de König (1) numerosos ejemplos de las variaciones de la composición de las semillas más comunes. Observemos también que, en muchos análisis, la determinación ha comprendido también la *cubierta del fruto*, pobre en fósforo (remolacha, zanahoria).

Raíces.—La raíz es un órgano de tránsito; el ácido fosfórico y la potasa, que abundan en este órgano al principio de la vegetación, lo abandonan poco a poco; únicamente la cal permanece en cantidad con frecuencia mayor que al principio.

Análisis de la raíz de la cebada (Fittogen).

	En 100 partes de cenizas		
	PO^4H^3	K^2O	CaO
22 mayo	9,82	11,48	32,53
2 junio	9,24	9,51	37,25
16 —	7,70	9,47	35,37
24 —	5,19	8,49	32,64
16 julio	5,03	5,12	41,92

Para demostrar las variaciones de la materia salina en la raíz de colza, Is. Pierre supone que la planta entera contiene 1000 partes de ácido fosfórico, 1000 de cal y 1000 de álcalis. Se encuentran entonces las siguientes cifras en los diversos períodos del desarrollo de la planta:

Raíces recogidas en:	Ácido fosfórico	Cal	Álcalis
22 de marzo.	199	105	185
2 de abril	178	82	167
6 de mayo	124	62	114
6 de junio	115	56	119
20 —	100	103	123

(1) *Chemische Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs-und Genussmittel von Dr. J. König.* 4.ª ed., Berlín, Verlag von Julius Springer, 1903.—C. B.

La riqueza de la raíz en elementos salinos varía mucho, por lo demás, con la naturaleza y la cantidad de los abonos dados a la planta. En general, en las plantas anuales, las materias fijas se comportan como acabamos de exponer respecto de la colza.

He aquí las cifras que indican la repartición de los elementos salinos en las cenizas de las raíces del clavel, en las épocas antes indicadas (pág. 433):

	Peso de 100 raíces desecadas a 110°	En 100 raíces desecadas a 110°				En 100 partes de cenizas totales			
		PO^4H^3	CaO	MgO	K^2O	PO^4H^3	CaO	MgO	K^2O
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
I.	32,85	0,62	0,37	0,08	2,31	10,6	6,4	1,4	41,4
II.	193,12	2,68	1,54	0,40	7,93	12,2	7,0	2,0	36,0
III.	416,00	5,36	2,66	0,74	13,68	13,3	6,6	1,9	34,0
IV.	545,16	3,48	4,41	0,98	12,75	8,7	11,0	2,4	31,8
V.	655,40	2,94	6,94	1,31	16,05	5,7	13,5	2,5	29,7

Las raíces de las plantas vivaces contienen, al principio de la vida del vegetal, grandes proporciones de ácido fosfórico y de potasa, como las de las plantas anuales; desde el fin del período activo de la vegetación, la cantidad de estas substancias en 100 partes de cenizas disminuye mucho, mientras que la de la cal aumenta. La sílice aumenta también en proporciones muy notables. Así, se encuentran en las raíces de un *nogal* del año:

	En 100 partes de cenizas:				Peso de 100 raíces secas	100 raíces contienen:			
	SiO^2	PO^4H^3	K^2O	CaO		SiO^2	PO^4H^3	K^2O	CaO
					gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
31 julio.	5,13	17,67	34,71	15,39	335	0,60	2,07	4,05	1,80
15 sep.	»	»	34,95	»	1326	»	»	14,85	4,64
6 nov.	13,89	6,10	23,76	17,75	1993	9,36	3,98	15,94	11,95

Órganos subterráneos.—Los tubérculos, los bulbos, las raíces carnosas contienen siempre grandes cantidades de *potasa*. El *ácido fosfórico* figura igualmente con una cifra bastante elevada. La *sosa* existe en proporción variable, según que la tierra contenga o no sal común o que el suelo haya recibido abonos sódicos. La *cal* experimenta notables variaciones; sin embargo, puede decirse que, como regla

general, su peso es más elevado que el de la magnesia, al contrario de lo que ocurre en las semillas. El *óxido de hierro* da cifras parecidas a las que dan las semillas, pero el *ácido sulfúrico* siempre es más abundante.

He aquí las medias de algunos análisis de cenizas de tubérculos, bulbos y raíces carnosas:

	K^2O	CaO	MgO	P^2O^5	SO^3	
Patatas . . .	60,0	2,6	4,9	16,8	6,5	En 100 partes de cenizas
Topinambur. .	47,7	3,2	2,9	14,0	4.9	
Remolacha azucarera. . .	53,1	6,0	7,8	12,1	4,2	
Zanahoria . .	36,9	11,3	3,6	14,5	9,6	
Pastinaca . .	54,5	11,4	5,7	19,5	5,1	
Rábano . . .	21,9	8,7	3,5	41,1	7,7	
Cebolla . . .	34,0	22,8	4,6	17,3	5,6	

Existen diferencias considerables de un análisis a otro respecto del mismo tubérculo o de la misma raíz carnosa. Así, el análisis de la remolacha expuesto en el cuadro anterior representa la media de 49 ensayos, cuyas diferencias extremas han sido, según Wolff: cenizas totales, 2,5 a 6,6 (por 100 partes de materia seca); potasa, 26,9 a 78,1; cal, 1,6 a 17,8; ácido fosfórico, 3,4 a 27,1 (en 100 partes de cenizas).

La patata presenta diferencias análogas: potasa, 44,0 a 73; cal, 0,4 a 7,2; ácido fosfórico, 8,4 a 27,1. La sosa, que a menudo falta, figura a veces en la proporción de 17 por 100 del peso de las cenizas. La zanahoria y la pastinaca presentan diferencias parecidas. Estas divergencias, si no son atribuíbles a errores analíticos, debidos a los procedimientos de análisis empleados o al modo de obtener las cenizas (pérdidas por volatilización), podrían proceder principalmente de la naturaleza del suelo en que las plantas han vegetado, de la proporción y de la composición de los abonos puestos a su disposición, y de las condiciones del clima en que se han desarrollado.

Tallos.—La composición de las cenizas de un tallo herbáceo varía de una planta a otra y, en una misma familia, de

una especie a otra; varía igualmente con el estado del desarrollo. Como regla general, el *ácido fosfórico* y la *potasa* abundan tanto más cuanto más joven es el tallo: estos elementos, y principalmente el ácido fosfórico, emigran en cierta época a las semillas. En cuanto a la *cal*, aumenta sensiblemente a medida que el tallo avanza en edad. Esto es lo que se manifiesta en el cuadro siguiente, relativo a la composición de las cenizas del tallo de la colza. El cálculo está hecho suponiendo que la planta total contiene 1000 partes de cada elemento salino: potasa, ácido fosfórico, cal (Is. Pierre).

	Ácido fosfórico.		Potasa.		Cal.	
	Tallos	Ramas floríferas que llevan los frutos	Tallos	Ramas floríferas que llevan los frutos	Tallos	Ramas floríferas que llevan los frutos
22 marzo .	248	97	365	59	121	50
2 de abril .	328	113	407	69	181	65
6 de mayo.	374	273	502	205	248	123
6 de junio.	202	658	495	349	278	426
20 — .	125	775	397	480	294	603

He aquí las cifras que indican la repartición de los elementos de las cenizas en los tallos del clavel, en las épocas señaladas antes (pág. 433):

	Peso de 100 tallos desecados a 110°	En 100 tallos desecados a 110°.				En 100 partes de cenizas totales			
	gr.	PO^4H^3 gr.	CaO gr.	MgO gr.	K^2O gr.	PO^4H^3	CaO	MgO	K^2O
I. .	57,85	1,19	0,51	0,21	5,00	8,5	3,6	1,5	35,4
II. .	698,43	11,59	6,91	2,30	41,06	12,8	7,6	2,5	45,3
III. .	1 787,20	33,77	22,34	5,00	66,66	19,5	12,9	2,9	38,4
IV. .	2 385,20	19,55	30,53	5,24	60,34	11,5	17,9	3,2	35,4
V. .	2 947,30	14,14	45,38	6,77	81,05	6,3	19,8	2,9	35,2

He aquí ahora la composición de las cenizas de los tallos de un nogal del año:

	En 100 partes de cenizas				100 tallos contienen			
	SiO^2	PO^4H^3	CaO	K^2O	SiO^2 gr.	PO^4H^3 gr.	CaO gr.	K^2O gr.
31 julio.	1,40	11,61	25,35	35,69	0,08	0,69	1,49	2,11
15 sep.	5,37	8,48	28,95	16,92	0,58	0,94	3,23	1,89
6 nov.	3,56	3,62	41,40	11,44	0,59	0,59	7,05	1,92

Se ve claramente, en este último ejemplo, la disminución

del ácido fosfórico a medida que el órgano va siendo más viejo, seguida de la acumulación de la cal.

Madera.—La potasa es abundante en las cenizas de algunas maderas: *Abies pectinata*, 44 por 100; nogal, 39 por 100; roble, 39; haya, 38. Raramente se observan cifras inferiores a 5 por 100 en las maderas más pobres. La albura generalmente es más rica en potasa que el duramen.

La riqueza de las maderas en *sosa* siempre es menor que la riqueza en potasa; varía enormemente, y a veces es insignificante.

La *cal* generalmente es muy abundante, pudiendo formar hasta los dos tercios de las cenizas totales. Entre las maderas ricas en cal deben citarse: el tilo (75,9 por 100 del peso de las cenizas), el serbal (76,1), el álamo (66), el fresno (62), el olmo (77). Las variaciones de la cal son bastante notables en las cenizas de la madera de un mismo árbol, según sean los suelos en que éste ha vegetado. La cal, en las cenizas de la madera de haya, varía de 26 a 33 por 100 del peso de las cenizas totales; en la madera del pino silvestre, de 41 a 62; en la madera de roble, de 19 a 27; en la madera de abedul, de 19 a 45.

El *ácido fosfórico* representa con frecuencia de 3 a 4 por 100 del peso de las cenizas de la madera; a veces la proporción es más elevada y puede subir hasta 20 por 100. El ácido fosfórico aumenta en la madera en la época en que es mayor la actividad de la vegetación.

La riqueza de las cenizas de la madera en *sílice* es extremadamente variable; mientras que algunas maderas no contienen más que de 2 a 3 por 100 de sílice, en otras este elemento llega a la proporción de 30 a 40 por 100.

Corteza.—La corteza joven a menudo es muy rica en *potasa* (61 por 100 del peso de las cenizas en el castaño); 29 a 34 por 100 en las diversas especies de sauces; 45 por 100 en el nogal. Pero, en las cortezas más viejas, la proporción de potasa es mucho menor (3 a 8 por 100). La cantidad de potasa de las cenizas de la corteza varía, pues, con la edad del árbol, pero de un modo irregular: unas veces aumenta y otras disminuye.

La *cal* es la base más abundante de la corteza; con frecuencia forma las tres cuartas partes de las cenizas de las cortezas viejas. Cuando la corteza es más joven, la cal es menos abundante, pero se encuentra todavía frecuentemente en la proporción de 40 por 100 del peso de las cenizas. El peso de esta base es, pues, tanto mayor en una corteza cuanta más edad ésta tenga. La riqueza en cal varía también con la época de la vegetación.

El *ácido fosfórico* es tanto más abundante en la corteza cuanto más joven es ésta; las cortezas viejas no contienen más que de 1 a 4 por 100 del peso de las cenizas. La riqueza de la corteza en sílice es muy variable; las cortezas viejas contienen siempre más que las jóvenes.

Hojas.—Como regla general las hojas de las plantas herbáceas, así como las de los árboles, son ricas en *potasa* y en *ácido fosfórico* cuando son jóvenes. A medida que las hojas envejecen la mayor parte de estos dos elementos, y sobre todo el primero, emigra, ya a las semillas, ya a las partes subterráneas. Cuanto más avanza la hoja en edad, tanto más se enriquece en sílice y en cal. He aquí la repartición de los elementos de las cenizas en las hojas de 100 plantas secas de *Sinapis alba:*

22 de junio			6 de julio			26 de julio		
PO^4H^3 gr.	CaO gr.	K^2O gr.	PO^4H^3 gr.	CaO gr.	K^2O gr.	PO^4H^3 gr.	CaO gr.	K^2O gr.
0,50	1,69	1,30	0,59	2,88	1,96	0,46	3,86	1,30

Citemos también las siguientes cifras, que expresan la repartición de los elementos de las cenizas en las hojas del clavel, en las épocas indicadas antes (pág. 433):

	Peso de las hojas de 100 plantas desecadas a 110°	En las hojas desecadas a 110° de 100 plantas				En 100 partes de cenizas totales			
	gr.	PO^4H^3 gr.	CaO gr.	MgO gr.	K^2O gr.	PO^4H^3	CaO	MgO	K^2O
I.	287,55	5,26	9,29	3,68	19,35	7,8	13,9	5,5	29,0
II.	791,25	10,99	39,24	9,41	39,72	6.5	23,3	5,5	23,4
III.	1 131,84	22,69	76,94	8,85	52,88	7,5	25,5	3,9	17,5
IV.	1 367,28	21.19	139,05	12,57	32,26	4,8	31,8	2,9	7,4
V.	1 269,85	17,26	130,41	9,01	17,42	4,2	31,5	2,2	4,2

Cien partes de cenizas de las hojas de *haya* contienen:

	SiO^2	PO^4H^3	CaO	K^2O
16 de mayo. .	1,19	24,21	9,83	29,95
18 de julio. .	13,37	5,18	26,46	10,72
14 de octubre .	20,68	3,48	34,05	4,85
Fin de novbre .	24,37	1,95	34,13	0,99

(Zoeller.)

Recordemos los siguientes ejemplos tomados de los experimentos de Fliche y Grandeau (1876):

		SiO^2	PO^4H^3	CaO	K^2O
Robinia .	2 mayo . .	3,72	21,16	20,82	30,60
	3 julio. . .	1,67	8,69	48,64	19,20
	7 septiembre.	2,05	5,31	72,97	6,62
	13 octubre. .	1,68	1,90	72,00	3,25
Cerezo silvestre.	28 abril . .	1,41	15,80	30,57	32,78
	3 julio . .	1,76	8,20	38,06	17,80
	7 septiembre.	2,72	5,93	44,70	12,15
	2 octubre. .	2,30	3,80	44,05	11,82

Si, en vez de evaluar la potasa refiriéndola a 100 partes de cenizas, se refiere esta base a un determinado número de hojas, se encuentra todavía una disminución cuando estas hojas avanzan en edad: esto es lo que se observa en el siguiente caso en que Tücker y Tollens han determinado la cantidad de este álcali que se halla en quinientas hojas de plátano:

13 junio	15 julio	22 agosto	7 sept.	8 octubre	24 ocbre.	5 novbre.
1,95	2,10	2,12	2,23	1,56	0,99	0,88

La riqueza de las hojas en *cal* generalmente es bastante grande, como acabamos de exponer; sin embargo, es inferior a 10 por 100 del peso de las cenizas en cierto número de vegetales: *te*, muchas plantas del género *Carex*, *Luzula maxima*, *Scirpus lacustris*, *Hordeum murinum*, *Briza media*, *Ajuga reptans*, *Saccharum officinarum*, etc.

La riqueza de las hojas en *magnesia* es muy variable; a veces es bastante elevada y, en algunos vegetales, superior a la de la cal. Por el contrario, existen hojas que no contienen más que muy poca magnesia. Generalmente, se observa

en las cenizas una cantidad de magnesia que varía de 3 a 8 por 100. Como la cal, la magnesia se acumula en las hojas viejas, tanto si se refiere esta base a 100 partes de cenizas, como si se refiere a un número determinado de hojas.

La riqueza de las hojas en *óxido de hierro* varía generalmente de 1 a 4 por 100 del peso de las cenizas; esta base se acumula igualmente en las hojas viejas. Ciertas hojas no contienen más que indicios, otras son relativamente ricas: brezo, grama, olmo. El *óxido de manganeso* es constante en las cenizas de las hojas, pero en proporciones extremadamente variables.

El *ácido fosfórico* abunda en las hojas jóvenes, pero la cantidad máxima de esta substancia no se encuentra siempre en ellas en la misma época de su desarrollo. En general, la proporción máxima en las cenizas de las hojas, en el momento del máximo, es de 8 a 15 por 100; de todos modos, se observan con bastante frecuencia proporciones de 20 a 25 por 100 (hojas de haya, te, lila, fresno, abedul, etc.). Entre muchas plantas del mismo género existen, a veces, notables diferencias; los abonos fosfatados aumentan la proporción de los fosfatos en las hojas; pero, esto dista mucho de ser en absoluto cierto.

El *ácido sulfúrico* que se halla en las cenizas de las hojas procede, según hemos dicho, en su mayor parte de la destrucción por el calor del núcleo sulfurado de las materias albuminoides y de diversos compuestos sulfurados. La riqueza en ácido sulfúrico no pasa, por lo general, de 3 a 6 por 100 del peso de las cenizas. Algunas veces llega a 10,15 y hasta a 18 por 100 en las hojas de algunos vegetales. Recíprocamente, se observa, en ocasiones, una proporción de ácido sulfúrico inferior a 1 por 100. La proporción de este ácido que se encuentra en las cenizas aumenta durante toda la existencia de las hojas; disminuye, en ciertos casos, un poco antes de su caída.

La *sílice* varía en las cenizas de las hojas en proporciones considerables, desde indicios hasta 80 por 100.

La cal y la sílice parecen formar una especie de armazón mineral de las hojas y, sin que se pueda afirmar que el hecho

sea absolutamente general, se observa a menudo una suerte de *substitución* entre estas dos substancias: a una proporción elevada de sílice en las cenizas de una hoja corresponde una escasa proporción de cal, y recíprocamente. A veces estas dos materias se encuentran en proporciones casi iguales. Ciertas familias de plantas poseen hojas que almacenan sobre todo cal (leguminosas, crucíferas, crasuláceas), otras se cargan sobre todo de sílice (gramíneas, ciperáceas).

Plantas acuáticas. — La naturaleza de los principios minerales que se encuentran en sus cenizas no difiere esencialmente de la de las plantas que se desarrollan en el aire. La cantidad de óxido de hierro a veces es mayor. Algunas plantas sumergidas se incrustan fácilmente de carbonato cálcico.

Tales son los datos generales relativos a la repartición de las materias fijas en las diferentes partes de una planta. Por lo demás, a propósito de los fenómenos de migración y de maduración, tendremos ocasión de volver a ocuparnos en el transporte de las materias salinas.

4.° CULTIVOS ARTIFICIALES HECHOS EN MEDIOS DE COMPOSICIÓN CONOCIDA

Resulta de lo que hemos expuesto antes que ciertas materias fijas son *cualitativamente* indispensables, y que estas materias desempeñan evidentemente un papel fisiológico bien definido respecto de la economía de la planta. Pero, sorprenden, aun después de la corta reseña que hemos hecho, las enormes variaciones cuantitativas que se observan en el análisis de las cenizas, no sólo de una planta a otra, sino también en la misma planta. Es, pues, indispensable, en vista de estas divergencias, fijar el valor real de tal o cual elemento, y saber si algunos de los que la planta que se desarrolla en un medio natural como el suelo absorbe en proporciones a menudo muy variables, son de utilidad discutible o secundaria. Este aspecto de la cuestión ha sido considerado desde hace tiempo por los fisiólogos que han comprendido todo el

partido que podía sacarse del estudio sistemático de una nutrición mineral en cierto modo *sintética*.

Tal es el fin que se desea alcanzar cuando se cultiva una planta, ya sea en un medio líquido en el cual se introducen, en estado de disolución, las substancias salinas que se encuentran siempre en las cenizas de la planta, ya sea en una masa sólida, inerte en sí misma, que se humedece con agua y a la cual se incorporan las sales destinadas a la formación del vegetal.

La ventaja de estos métodos sintéticos es evidente. La supresión de un elemento mineral podrá no ocasionar más que desórdenes insignificantes, o hasta malos, en la evolución del vegetal, y se llegará forzosamente a la conclusión de que este elemento es superfluo; pero, si el desarrollo de la planta se hace imposible, o solamente incompleto, en ausencia de otro elemento, se deberá admitir que este último desempeña un papel fundamental en la serie de los fenómenos vitales que principian con la germinación y terminan con la madurez de las semillas.

Las críticas que se pueden hacer de los métodos de cultivo sintéticos son las siguientes: cuando una solución salina, siempre muy diluída, se expone al aire, a menudo se recubre, en los vasos de vidrio transparentes, de vegetaciones microscópicas verdes que pueden alterar los resultados. Sin embargo, esta causa de error es pequeña y no influye en el sentido general y en el valor que hay motivo de conceder al experimento. Si el vaso de vidrio es opaco, frecuentemente ocurre que la disolución que contiene se siembra, por efecto de su contacto con el aire, de microorganismos anaerobios, algunos de los cuales reducen las sales de la disolución y ocasionan la muerte de las plantas. Para evitar este inconveniente es recomendable, en este último caso, cambiar a menudo el líquido. En estos últimos años muchos experimentadores han logrado cultivar plantas superiores en soluciones asépticas que permanecen tales durante toda la duración de la evolución de la planta.

Los cultivos en medio sólido se presentan bajo un aspecto más normal, porque una planta que vive ordinariamente en

el suelo modifica la forma de sus raíces cuando se la cultiva en el agua. Sin embargo, es difícil disponer de un medio sólido absolutamente puro, que no contenga, por ejemplo, más que sílice. Los medios de sílice reputados como puros contienen casi siempre pequeñas cantidades de álcalis: potasa o sosa.

Sea lo que fuere, el método de los cultivos en medio artificial ha suministrado informes muy preciosos; ha sido llevado a la práctica por un gran número de fisiólogos. Lo expondremos muy sumariamente en sus líneas generales. Este método es el único que conviene seguir en el estudio de los vegetales microscópicos, donde el medio puede fácilmente hacerse aséptico. Ha dado en este caso resultados del mayor interés.

Aquí nuestro objeto es, sobre todo, el estudio de las plantas superiores. La cuestión ha sido tratada muy acertadamente por Grandeau en su obra titulada: *Chimie et physiologie appliquées à l'agriculture et à la sylviculture* (París, 1879, pág. 102). Tomaremos de esta obra algunos de los pormenores que siguen.

A. **Cultivos en medios líquidos.**—Los primeros experimentos fueron hechos en medios sólidos. Pero, pronto se observó que éstos, aun cuando parecen absolutamente inertes, ceden siempre a las plantas algo de su propia substancia. Así se ha impuesto la necesidad de no operar más que con medios puramente líquidos, de manejo incomparablemente más fácil, y los únicos que pueden suministrar conclusiones rigurosas sobre la absorción salina.

Una observación general es aquí necesaria. Los vegetales se desarrollan en medios de concentración muy diferente. Los vegetales inferiores, y principalmente las mucedíneas, son los que, respecto de este punto, presentan las más notables facultades de adaptación. Se ve, por ejemplo, que el *Penicillium glaucum* invade ciertas soluciones salinas o ciertos líquidos orgánicos muy concentrados, mientras que, inversamente, puede desarrollarse en disoluciones acuosas que no contienen más que 0,1 gr. de azúcar por 100. En cuanto a las plantas superiores, rehusan éstas vegetar en los líquidos concentrados, y las soluciones más favorables a su desarrollo son, generalmente, las que contienen menos de 1 gr. de materias disueltas en 100 partes de agua.

Examinemos ahora los experimentos hechos en medio acuoso, después de haber indicado, desde el punto de vista histórico, los resultados de la primera tentativa de cultivo artificial efectuada en medio sólido.

Wiegmann y Polstorff (1842) fueron los primeros experimentadores que, después de la aparición del libro de Liebig (1840), intentaron ensayos racionales de cultivo en medio artificial. Antes de esta época, numerosos ensayos sobre este mismo tema no habían producido la convicción relativamente a la necesidad de la materia mineral y al papel indispensable de ciertos elementos. Los citados autores tomaron como objetos de estudio la arveja, la cebada, la avena, el alforjón, el tabaco y el trébol, cuya vegetación siguieron en dos medios diferentes:

1.° El primero, formado por arena cuarzosa pura, calcinada, tratada con agua regia y lavada, es decir, un medio exento de materias orgánicas y de materias minerales solubles en el agua.

2.° El segundo, formado por arena cuarzosa (861 partes), mezclada con 139 partes de diversas sales minerales: fosfato cálcico, óxido de hierro, carbonato magnésico, sulfato potásico, sulfato cálcico, carbonato cálcico, con adición de humatos potásico, sódico y amónico.

El resultado obtenido fué muy preciso. En la arena sola las plantas se estiraron; aparecieron algunas flores y, a veces, algunos frutos; pero no hubo semillas. En la arena provista de materias salinas, el alargamiento de las plantas fué el doble; las plantas florecieron y fructificaron y las semillas así formadas fueron fecundas.

La incineración de las semillas, por una parte, y la de las plantas desarrolladas en los dos medios que se acaban de citar, por otra, demostró que las plantas que habían vegetado en la arena pura contenían el doble de cenizas que las semillas de donde procedían, y que las que se habían desarrollado en la arena provista de las sales necesarias contenían 4,5 y hasta 13 veces más cenizas que la semilla inicial. Pero, en la arena tratada por el agua regia existían aún pequeñas cantidades (2 por 100) de potasa, cal, magnesia; éstas son las bases que la planta había absorbido. Era necesario demostrar, en esta época, que este exceso de materia mineral no se había formado de por sí en la planta; por esto los autores sembraron las mismas semillas en un vaso de platino que contenía simplemente agua. En estas condiciones, las plantas que vegetaron no dieron más que una cantidad de cenizas igual a la contenida en las semillas primitivas.

Por lo tanto, ciertas materias minerales son indispensables para el desarrollo del vegetal. El empleo de materias orgánicas (humatos) no sería capaz de destruir esta conclusión: el punto esencial es comprobar que la planta ha absorbido materia mineral y que ésta ha permitido obtener un desarrollo perfecto del vegetal con producción de semillas que puedan germinar ulteriormente.

Por otra parte, la supresión de toda materia orgánica no altera en nada el desarrollo de la planta, con tal que se den a ésta, ya sean nitratos, ya sean sales amoniacales.

Algunos años más tarde, Polstorff demostró que la cebada puede

desarrollarse en un medio sólido de ladrillo molido, humedecido con agua y adicionado de cenizas de cebada. Los elementos de las cenizas de una planta pueden servir, pues, para el completo desarrollo de la misma planta.

El estudio sistemático del valor comparado de los elementos minerales ha sido emprendido por vez primera por Knop (1860). Este sabio empleaba la siguiente solución; agua, 1 litro; nitrato cálcico, 1 gr.; fosfato potásico, nitrato potásico, sulfato magnésico, 0,25 gr. de cada uno. A esta solución se añade un poco de fosfato férrico y, a veces, 0,25 gr. de cloruro potásico. Knop prepara tres soluciones parecidas, pero de diversas concentraciones; la primera contiene la mezcla nutritiva de sales en la proporción de 0,50 gr., la segunda en la proporción de 1 gr. y la tercera en la proporción de 2 gr. La germinación se efectúa en la primera solución; a medida que avanza el desarrollo se emplea la segunda, y luego la tercera.

Knop ha formulado las conclusiones siguientes. El fosfato bipotásico es muy apropiado como fuente de fósforo; los nitratos potásico y cálcico son excelentes fuentes de nitrógeno, potasa y cal. El sulfato magnésico suministra a la planta el azufre y el fósforo que ésta necesita; el hierro en forma de fosfato es asimilado. Además, Knop observó que los líquidos deben ser neutros; un exceso de acidez o de alcalinidad es fatal para las plantas; lo mismo ocurre con la presencia de substancias reductoras (sulfato ferroso, hidrógeno sulfurado).

Se puede substituir en estas soluciones el ácido nítrico por el amoníaco como fuente de nitrógeno; el cloruro potásico puede reemplazar, como fuente de potasio, al nitrato; el cloruro magnésico puede substituir, como fuente de magnesio, al sulfato (Nobbe y Siegert). La presencia del cloro parece ser especialmente favorable para la fructificación del alforjón.

Entre las conclusiones importantes formuladas por Nobbe y Siegert sobre la nutrición de las plantas con soluciones minerales, deben citarse las siguientes: de la misma manera que en las plantas que vegetan normalmente en el suelo, para cantidades iguales de materia orgánica las raíces contienen menos pricipios fijos que los tallos, la transpiración de las hojas, es decir, la cantidad de agua que éstos evaporan, corresponde casi exactamente a la producción orgánica y a la cantidad de cenizas de la planta.

Para terminar indicaremos la composición del medio de cultivo preconizado por Mazé: nitrato sódico, 1 gr.; sulfato amónico, 0,25 gramos; fosfato bipotásico, 1 gr.; sulfato magnésico, 0,20 gramos; sulfato ferroso, 0,10 gramos; cloruro de manganeso, 0,05 gr.; cloruro de zinc, indicios; silicato potásico, indicios; carbonato cálcico, 2 gr.; agua común, 1000 gr. Con esta solución (más o menos modificada en su composición y en su concentración, según las circunstancias), esterilizada en la autoclave, el citado autor ha efectuado sus experimentos de cultivo del maíz en medio aséptico, experimentos que se relacionaban con las excreciones radicales y con el

papel fisiológico de ciertos elementos. Hablaremos de ellos ulteriormente.

Substitución de unas bases por otras.—Existen analogías químicas bastante grandes entre los metales alcalinos: potasio, sodio, litio; entre los metales alcalinotérreos, bario, estroncio y calcio; entre metales como el zinc y el magnesio. Los metales de una misma clase, ¿pueden substituirse totalmente unos a otros o sólo de un modo parcial?

El potasio no puede nunca ser reemplazado totalmente por ninguna otra base; puede serlo *parcialmente* por el sodio. El litio es un metal muy venenoso. El calcio no puede ser substituído por el estroncio, ni por el bario. El estroncio no es venenoso, a lo menos en pequeñas dosis; el bario lo es mucho más. El magnesio no puede reemplazar totalmente al calcio, excepto tal vez en algunos organismos inferiores. Puesto en contacto con ciertas plantas, las hace perecer rápidamente y, sin embargo, según hemos visto antes, el magnesio existe en cantidades muy notables en la mayor parte de las cenizas. En cuanto al zinc, es un metal muy tóxico cuando existe en cantidades apreciables; por el contrario, indicios infinitesimales parecen no ejercer influencia perjudicial en las plantas superiores. Volveremos a hablar de esta substancia.

Los fosfatos nunca pueden ser reemplazados por los arseniatos; se ha indicado que ocurría esto en algunos microorganismos, pero parece que esta afirmación carece de fundamento.

El bromo en estado de bromuro alcalino puede ser absorbido en notable cantidad por la planta sin que ésta parezca sufrir por ello, a lo menos en soluciones muy diluídas; con la misma concentración, la vegetación es anulada por los yoduros alcalinos. Sin embargo, las plantas marinas absorben en el agua del mar una proporción de yoduros que no es despreciable; estos yoduros son retenidos por la planta en una forma especial, porque los lavados prolongados con agua destilada, aun hirviente, no pueden separarlos.

La substitución unas por otras de bases de familias diferentes conduce, a veces, a curiosas aproximaciones. Hemos dicho que la sosa podía reemplazar parcialmente a la potasa; pues bien, la cal puede substituir parcialmente a la potasa: resulta esto de un experimento de Pellet sobre las cenizas de las hojas de *tabaco:*

	Tabaco del Brasil. 1.	2.	Tabaco del Lot.
Cal	15,0	20,8	28,1
Potasa	47,1	38,1	19,5
Magnesia	8,4	7,95	8,1
Cantidad de ácido sulfúrico necesaria para la saturación de las bases.	92,25	90,65	90,0

Puesto que la cantidad de ácido sulfúrico necesaria para la saturación de las bases es aproximadamente la misma (no habiendo experimentado la magnesia más que variaciones poco notables), es preciso admitir que la cal y la potasa se han substituído parcialmente.

Influencia del ácido de una sal en la absorción y en la utilidad de una base.—Tomaremos como ejemplo los resultados obtenidos con la potasa suministrada a las plantas en diferentes formas, según un trabajo ya antiguo de Nobbe, Schrœder y Erdmann (1870). Las plantas sometidas al experimento fueron el alforjón y el centeno. Ocurre que, si la solución nutritiva está exenta de potasa, la planta vegeta como si estuviese en agua sola, a pesar de la presencia de los demás constituyentes indispensables de las cenizas. No se forma fécula. El cloruro y el nitrato potásicos dan resultados casi idénticos: los vegetales se desarrollan de una manera muy satisfactoria; florecen y fructifican. No sucede lo mismo si se da la potasa en forma de sulfato o de fosfato; la mayor parte de las plantas no florecen. Se forma una acumulación de fécula que queda estacionaria y no aprovecha al desarrollo de la planta.

Este experimento es interesante; pero, no se debe deducir de él que el sulfato o el fosfato de potasa son malos agentes de nutrición, porque, en el suelo, intervienen fenómenos de doble descomposición, a consecuencia de los cuales hay realmente cambios de ácidos y de bases. El experimento de los tres autores antes citados sobre el valor comparativo de las sales potásicas no es valedero más que en solución acuosa y aun con ciertas restricciones. De todos modos, fija un punto importante de fisiología, esto es, el papel capital de la potasa en la formación de la fécula.

El número de ensayos en medio acuoso efectuados desde estos últimos trabajos hasta hoy es considerable. Pero, suspenderemos aquí su descripción, porque todos ellos son confirmativos de la absoluta necesidad de los elementos minerales siguientes: nitrógeno, fósforo, cloro, potasio, ácido sulfúrico, cal, hierro, magnesia, manganeso, zinc.

La utilidad de la sílice, de la sosa y aun del mismo cloro, es discutible, a lo menos en muchas plantas. Pronto volveremos a este punto.

Medios líquidos de cultivo para los microorganismos.—Como regla general, los microorganismos absorben los mismos elementos minerales que las plantas superiores. Pero, como en su mayoría no tienen clorofila, es indispensable darles un alimento carbonado conveniente. En general, este alimento es el azúcar. El líquido de Pasteur contiene:

Agua = 1000 gr.; azúcar cande = 10 gr.; tartrato amónico = 0,1 gr.; se añaden las cenizas de 1 gr. de levadura de cerveza.

El líquido de Raulin, uno de los más usados, tiene la composición siguiente:

Agua = 1500 gr.; azúcar cande = 70 gr.; ácido tartárico = 4 gr.; nitrato amónico = 4 gr.; fosfato amónico y carbonato potásico, de cada uno = 0,60 gr.; carbonato magnésico = 0,40 gr.; sulfato amónico = 0,25 gr ; sulfato de zinc, sulfato de hierro, silicato potásico, de cada uno = 0,07 gr.

Las materias orgánicas empleadas como fuente de carbono son el azúcar cande (70 gr. en 1500 gr. de agua) y el ácido tartárico (4 gr.). En el líquido de Cohn y en el de Nœgeli, la materia orgánica añadida es el tartrato amónico. A veces se emplea la glicerina. Frecuentemente se usan infusiones vegetales y caldos de carne, que se enriquecen con substancias minerales.

B. **Cultivos en medios sólidos.**— Este método ha sido objeto de numerosos trabajos, principalmente de Boussingault y de Georges Ville. El primero de estos autores ha demostrado que si se añaden a arena estéril cenizas de plantas, adicionándole nitrato potásico, se obtienen cosechas en las cuales el peso de la materia seca es de quince a veinte veces mayor que el de las cosechas que se obtienen en la arena sola. Un *Helianthus*, cultivado en arena que no contiene más que nitro, da una planta miserable; si al nitro se añade un fosfato, el rendimiento es veinte veces mayor. La supresión del ácido fosfórico se manifiesta siempre por una cosecha insignificante. Para que el resultado sea bien franco, conviene emplear vasos de porcelana, porque en los de tierra porosa ordinaria pueden existir pequeñas cantidades de ácido fosfórico. Ciertas plantas, y en particular el trigo, tienen la propiedad de absorber hasta los últimos vestigios de este ácido.

A G. Ville se deben los primeros ensayos concluyentes respecto de la utilidad y del empleo de las *sales químicas* mezcladas con un medio inerte, como la arena. Los experimentos de este autor están absolutamente de acuerdo con los resultados obtenidos en los ensayos de cultivo en medios líquidos que antes hemos expuesto. El nitrógeno, en un medio sólido, puede ser ofrecido a la planta en forma de nitrato potásico o sódico, y también en forma de sulfato o de cloruro potásico. El fósforo no puede ser utilizado en forma de fosfatos; los fosfitos y los hipofosfitos no podrían reemplazarlo.

II

PAPEL FISIOLÓGICO DE LOS ELEMENTOS MINERALES

Es bien evidente, después de la precedente reseña, que el desarrollo de un vegetal no está asegurado más que si, junto

con el agua, el gas carbónico y el nitrógeno libre o combinado, este vegetal puede disponer de ciertos elementos fijos que se encuentran en sus cenizas. Estos elementos fijos, necesarios para la evolución de la planta, se hallan en sus tejidos en combinación más o menos íntima con la substancia orgánica, y es probable que, *a priori*, cada uno de ellos debe desempeñar un papel fisiológico determinado.

Desgraciadamente los datos que poseemos en este concepto son todavía bastante imperfectos. Vamos a resumir lo que es posible adelantar sobre este asunto.

Fósforo.—Existe una notable relación entre la presencia del fósforo y la de las materias albuminoideas. Tan pronto como la función clorofílica se ejerce de una manera activa, el nitrógeno proteico se engendra al entrar en juego el nitrógeno mineral. Se observa entonces que el fósforo se deposita en abundancia en las células de nueva formación. Las lecitinas y las nucleoproteínas son ricas en fósforo. En ausencia del ácido fosfórico, puede haber producción de albuminoides, pero la división celular y el desarrollo son imposibles (Lœw, 1900).

Según Lœw, el papel de las lecitinas e, indirectamente, del fósforo, sería el de servir a la respiración. Las lecitinas son éteres complejos del ácido fosfórico, que contienen una base, la *colina*, y glicerina unida a ácidos grasos. La materia grasa, una vez formada, entraría en el núcleo de una lecitina y se encontraría así en estado soluble en el protoplasma celular: en esta forma soluble podría sufrir fácilmente la acción del oxígeno y desaparecer luego por combustión. Otras moléculas de ácidos grasos ocuparían entonces el lugar de las que acaban de desaparecer; de manera que el mismo radical fosfoglicérico de la lecitina podría servir para la combustión continua de las materias grasas.

Azufre.—Su papel fisiológico está íntimamente enlazado con en el del nitrógeno, puesto que ciertos elementos del complejo albuminoide son sulfurados.

La supresión del azufre y del hierro, en un medio de cultivo líquido aséptico, hace aparecer la clorosis; la vegetación se atenúa y las hojas se secan. La clorofila, que pri-

mero ha desaparecido, vuelve a formarse si, en las hojas cloróticas, se ponen algunas gotas de una solución muy diluída de un compuesto soluble de azufre o de hierro (Mazé, 1914).

Cloro.— Este elemento no forma compuestos clorados orgánicos en los vegetales. Su presencia, en las condiciones naturales, es casi universal. Muchas plantas no fructifican en ausencia de este elemento, y a menudo es capaz, aun en pequeña cantidad, de desempeñar uno de los papeles más útiles. Tal vez corresponda a la clase de los cuerpos *estimulantes*. De todas maneras, el exceso de cloro, en forma de cloruros, es perjudicial; cuando una solución contiene 1 por 100, y aun menos, de cloruro sódico, muchas semillas no germinan en ella o cesan de desarrollarse tan pronto como ha terminado la germinación.

Silicio.—Las gramíneas no dan buenos rendimientos más que en presencia de una fuerte proporción de sílice. Pero, ésta no parece indispensable para el completo desarrollo de un vegetal. Un antiguo experimento de Jodin, hecho con el maíz, demuestra que se puede cultivar este vegetal en soluciones exentas de sílice, y cultivar luego las semillas de esta primera generación en medios exentos de sílice, y esto durante muchas generaciones.

La sílice no parece formar en la planta compuestos silicio-orgánicos. Su papel probable es el de concurrir a formar la armazón de ciertos órganos: tallos y, generalmente, hojas. Este papel sería más bien de orden físico que biológico. Sin embargo, es conveniente notar con qué facilidad una substancia tan poco soluble, y hasta poco difusible, penetra en todas las partes de la gran mayoría de los vegetales.

Según Hall y Morison, la sílice, dada a una gramínea en forma de silicatos solubles, tendría una influencia real en la formación de la semilla, análoga a la del ácido fosfórico.

Potasio. — La síntesis de los hidratos de carbono, su migración, lo mismo que la síntesis de los albuminoides, se relacionan estrechamente con la presencia del potasio. Sabemos que este metal alcalino nunca puede ser totalmente reemplazado por otro metal de la misma familia. Los vege-

tales inferiores reclaman igualmente potasio. Según Lœw, la proporción de los hidratos de carbono crece con la de la potasa; existiría también cierta proporcionalidad entre la cantidad de la potasa y la de los albuminoides.

El potasio es, en química, un enérgico agente de condensación. Desde el punto de vista fisiológico, esta propiedad aparece en el hecho de que el potasio favorece los fenómenos de asimilación; y éstos son, ante todo, fenómenos de condensación (Lœw).

Sodio.—Este metal puede reemplazar al potasio en algunos de sus atributos, especialmente en lo que se refiere a la saturación de los ácidos; pero, no puede substituirle en su papel esencial de productor de hidratos de carbono.

Sabemos que, si la riqueza de ciertas cenizas en potasio varía entre límites muy distantes, lo mismo ocurre con el sodio. Tal vez el potasio no es tan abundante en algunos vegetales más que porque muchos suelos contienen más potasio que sodio. Sería posible que muy pequeñas cantidades de potasio pudiesen bastar para las funciones fisiológicas de la mayor parte de los órganos de los vegetales, con la condición de que existiese a disposición de éstos bastante sodio para desempeñar respecto de la planta los diversos papeles para cuyo cumplimiento el potasio no es indispensable En este sentido, el sodio sería un verdadero sucedáneo del potasio.

Stahl-Schröder ha observado que, en un suelo abundantemente provisto de sales potásicas, la avena no absorbe una gran cantidad de sodio más que cuando este metal está combinado con los ácidos indispensables para la existencia de la planta; tal sería el caso del fosfato y del nitrato sódicos. Esta observación contradice una antigua observación de Pagnoul, según la cual la avena no absorbería sales sódicas mientras pudiese disponer de una cantidad suficiente de sales potásicas.

Algunas algas de agua dulce *(Vaucheria)* son especialmente sensibles a la acción de la sal común: $\frac{1}{10}$ de milígramo de esta substancia puede destruirlas en pocos minutos. Es singular que la toxicidad de la sal común sea anulada por la adición al líquido de pequeñas cantidades de los cloruros magnésico, potásico y cálcico, y de sulfato magnésico. Estas últimas substancias, absorbidas solas, serían nocivas para la planta (Osterhout). Según este mismo autor (1908), las sales sódicas desempeñarían, a veces, el papel de *protector*. La toxicidad de las sales cálcicas es marcadamente disminuída por la presencia de sales sódicas; existiría hasta un antago-

nismo más pronunciado entre las sales cálcicas y las sódicas que entre estas últimas y las magnésicas o las potásicas. El sodio no parece, pues, carecer de influencia en la vida de la planta. Este cuerpo no es un elemento nutritivo, es un elemento *protector*.

Calcio, magnesio. — Se puede adelantar que estos dos metales son indispensables para la existencia de los vegetales superiores. Su repartición, muy notable, implica un papel fisiológico diferente respecto de cada uno de ellos. La magnesia es, casi siempre, mucho más abundante en la semilla que la cal: ésta, por el contrario, predomina en la hoja. La magnesia es tanto más abundante en la madera cuanto más se acerca al corazón; lo inverso ocurre con la cal.

En los vegetales inferiores (algas y hongos inferiores), la presencia de la cal no parece indispensable para su desarrollo.

La relación entre la cal y la magnesia existentes en un suelo ejerce cierta influencia en las plantas que en él crecen, pero, desde el punto de vista del rendimiento máximo, esta relación varía de una planta a otra.

La *forma* en que la planta encuentra estos dos metales, tiene grande importancia. En estado de carbonato, el calcio y el magnesio favorecen igualmente la nitrificación. Muchos vegetales sólo prosperan en suelos calcáreos; la mayoría de las leguminosas se encuentran en este caso, y la adición al suelo de una cantidad suficiente de carbonato cálcico favorece en alto grado su desarrollo. Por el contrario, bastantes plantas vegetan mal en los suelos calcáreos y hasta desaparecen cuando la proporción de este elemento llega a ser algo considerable. La mayoría de las plantas que crecen en los terrenos ricos en materias húmicas o en las turberas, mueren cuando se encalan estas tierras. La cal, aplicada en forma de sulfato o de nitrato, en los vegetales que se desarrollan normalmente en los suelos calcáreos es incapaz de asegurar su desarrollo regular cuando falta el propio calcáreo. Por lo tanto, la forma en que el vegetal encuentra la cal no es indiferente. Muchos autores han admitido que la magnesia sola, en ausencia de la cal, es tóxica: esta conclusión es demasiado absoluta. Pequeñas proporciones de magnesia hasta ejercen una acción favorable en el desarrollo de la semilla. La acción retardatriz o mortal no se observa más que en presencia de un exceso de magnesia.

Bernardini y Corso (1908) han sido los primeros en insistir en la necesidad de cierta relación entre la cal y la magnesia del suelo. Según Bernardini y Sinischalchi (1909), los efectos nocivos de un exceso de cal y la acción tóxica de un exceso de magnesia no son imputables a las cantidades absolutas de los iones Ca y Mg absor-

bidos por la planta; dependen ánte todo de la relación en que estas dos substancias son absorbidas. La asimilación del ácido fosfórico es función de la relación que existe en el medio entre la cal y la magnesia.

Esta relación $\frac{CaO}{MgO}$ parece tener, pues, una influencia real sobre la producción de una cosecha determinada; además, la forma en que la cal es puesta a disposición del vegetal debe ser también tenida en consideración (Konowalow, 1911).

Hemos visto, a propósito de la formación de los ácidos en las plantas, lo que debía pensarse respecto de la presencia y del papel del oxalato cálcico (pág. 424). A menudo se ha pretendido que la cal servía sobre todo para neutralizar los ácidos que se habían vuelto demasiado abundantes y, por consiguiente, nocivos para el protoalasma. Esto es probable. Sin embargo, muchas plantas carnosas pontienen muy poca cal en sus cenizas y son extremadamente ricas cn ácido oxálico. Recordemos que Amar cree que la formación del exalato cálcico tiene sobre todo por objeto la eliminación de la cal ouperflua, más bien que la del ácido oxálico. En cuanto a las *incrustaciones calcáreas* que recubren como un estuche ciertas plantas scuáticas *(Chara)*, se ha explicado su presencia por la disociación an las hojas del bicarbonato cálcico llevado por la planta hasta estos erganos. Esta explicación es difícil de admitir, porque otras plantas ócuáticas que viven al lado de la *Chara* no presentan este fenómeno.

El papel fisiológico más probable que se puede atribuir a la cal consiste en la relación que existe entre la presencia de esta base y la migración de la fécula. Si falta cal, la fécula no cambia de lugar. Este cambio de sitio es correlativo de una acción diastásica destinada a solubilizar la fécula: la ausencia de la cal pondría, pues, a la célula en la imposibilidad de segregar la diastasa útil.

En cuanto al papel fisiológico de la magnesia, puede deducirse, según Lœw, de las siguientes consideraciones. Muchas sales magnésicas son fácilmente descompuestas por el agua; el carbonato, el cloruro, el fosfato bibásico, hervidos con agua, se disocian más o menos completamente. Especialmente en el caso del ácido fosfórico, éste será tanto más fácilmente asimilado cuanto más fácil sea la disociación de sus sales. La formación de las nucleínas, ricas en fósforo, reclama la presencia de un fosfato cuya disociación sea fácil: el fosfato bimagnésico parece encontrarse en este caso. En efecto, se ve que la magnesia se acumula en los órganos en vías de crecimiento rápido y en las semillas.

Según Bernardini y Morelli (1912), el embrión del arroz contiene grandes cantidades de ácido fosfórico en forma de sal magnésica del éter hexafosforado de la inosita (pág. 340). Cuando la germinación se ha efectuado en la obscuridad, la fitina se descompone poco a poco dando ácido fosfórico y magnesia solubles en el agua acidulada, y los fosfátidos desaparecen progresivamente. Pero, si la germinación se

efectúa a la luz, la riqueza en fosfátidos aumenta de un modo continuo, y la proporción de magnesia soluble disminuye a medida que aparece la clorofila. Es éste un nuevo ejemplo capaz de enseñar que el magnesio es un elemento indispensable para la constitución del pigmento verde.

Según Mazé (1914), la introducción del carbonato cálcico en la solución mineral aséptica, cuya composición ha sido indicada en la página 458, tiene por objeto insolubilizar las sales de hierro, manganeso y zinc. En efecto, éstas son muy tóxicas respecto del maíz, en la concentración adoptada por el autor en los medios completos, *cuando los tres metales se hallan en forma soluble.* Aun cuando estén insolubilizados por el carbonato cálcico, estos metales, indispensables para su evolución, son absorbidos por la planta gracias a las excreciones de las raíces: el vegetal regula la absorción según el consumo que de ellos hace.

Hierro. — Los vegetales superiores cultivados en un medio absolutamente exento de hierro no verdean o lo hacen mal; la adición de indicios de hierro basta para producir el enverdecimiento. Todas las sales de hierro, en solución muy diluída, son capaces de proporcionar este metal a la planta. Los vegetales inferiores no pueden desarrollarse en ausencia del hierro.

Como existen *nucleínas ferruginosas,* debe admitirse que el hierro entra en calidad de elemento indispensable en la estructura del protoplasma y en la de su núcleo. Su papel sería análogo al del ácido fosfórico, pero, con la diferencia de que muy pequeñas cantidades serían suficientes. En efecto, las mejores cosechas de cereales no quitan al suelo más que algunos centenares de gramos de este metal por hectárea. Los abonos ferruginosos han sido preconizados para combatir la clorosis de las plantas; sin embargo, las sales de hierro pasan a ser tóxicas más allá de cierta proporción.

En ausencia del hierro y en presencia de la proporción relativamente grande de zinc correspondiente al líquido normal de Raulin, el *Aspergillus niger* no forma espórulas (Javillier y Sauton, 1911).

El hierro posee una acción específica en el desarrollo de la cebada; no puede ser reemplazado por ningún otro metal próximo a el químicamente (cromo, níquel) [Wolff, 1913]. (Véase también lo que hemos dicho del hierro a propósito del azufre, pág. 462.) El hierro desempeña probablemente el papel de *cofermento* en algunas oxidasas.

Manganeso.—Se debe poner ciertamente al manganeso en el grupo de los cuerpos indispensables para la vida vege-

tal. La presencia de este metal es constante en todas las plantas: los órganos clorofilianos parecen ser los más ricos en manganeso.

Hemos visto el papel capital que desempeña este elemento en la constitución de las oxidasas (pág. 144). Un cultivo de mucedíneas en medio líquido, al cual se añaden indicios de sulfato de manganeso, proporciona plantas cuyo desarrollo es mucho más rápido que en ausencia de este metal. Un exceso de manganeso produce efectos tóxicos análogos a los que determinan las sales de hierro en exceso. Las sales mangánicas son más tóxicas que las manganosas.

Introducido en forma de sulfato muy puro en el líquido de Raulin, exento de zinc, y en proporciones crecientes desde cero hasta una dilución de $\frac{1}{50}$ (cultivo de *Aspergillus)*, el manganeso produce un efecto favorable en el desarrollo de la mucedínea, aun en proporciones muy pequeñas. Las cantidades de este metal utilizadas por la mucedínea son muy distantes de las que le son ofrecidas (Bertrand y Javillier, 1911).

Cuando se asocia el zinc con el manganeso en el líquido de Raulin, se obtienen cosechas más abundantes que con cada uno de los metales separados. Si se representa por 100 el peso de la materia seca recolectada sin manganeso, ni zinc, se obtiene un excedente, en experimentos comparativos, de 242 con el zinc y de 170 con el manganeso solos. El peso de la cosecha llega a 284 cuando se asocian los dos metales (Bertrand y Javillier, 1911). El manganeso se acumula en proporciones más elevadas cuando está asociado con el zinc que cuando se emplea solo (Bertrand y Javillier).

Dado el lugar importante que ocupa el manganeso en la constitución de los fermentos oxidantes, se ha ensayado el empleo de las sales de manganeso como abonos. Sin duda, casi todos los suelos contienen manganeso; pero, la forma en que existe este metal puede no ser siempre bien apropiada.

Las sales de manganeso poseen igualmente una influencia muy marcada respecto de diferentes especies de levaduras (Kayser y Marchand).

Stoklasa (1911), operando con soluciones acuosas, o en cajas de vegetación, o en campos de experimentos con el trigo, la cebada, el centeno, el maíz, el alforjón, la avena, el guisante, ha comprobado los efectos favorables de la asociación de las sales de manganeso con las de aluminio.

Zinc.—Entre los elementos considerados como raros en las plantas, citaremos el zinc. Se sabe desde hace mucho tiempo que, en los terrenos ricos en minerales de zinc, se

encuentran plantas cuyas cenizas contienen notables cantidades de este elemento. Esto fué considerado primero como fortuito, porque estas mismas plantas, cuando crecen en suelos diferentes, no parecen contener zinc.

Tal vez podría llegarse a la conclusión de que el zinc no desempeña ningún papel en la economía vegetal, si no estuviese demostrado, por recientes investigaciones, que este metal es mucho menos raro en el suelo de lo que antes se creía, y que gran número de cenizas vegetales contienen indicios de zinc. Este entrará sin duda más tarde en la categoría de los cuerpos llamados *estimulantes* o en la de los metales *catalíticos,* como el manganeso, al cual corresponde la función especial que hemos recordado antes.

El interés que tiene la presencia del zinc en ciertos vegetales ha sido puesto en evidencia, por primera vez, por Raulin en su estudio sobre el desarrollo del *Aspergillus niger* (1870). Este autor ha demostrado que mínimas cantidades de zinc (0,07 gr. de SO^4Zn por litro de un líquido que contenía todos los principios útiles) elevaban el peso de la cosecha de la mucedínea en proporciones muy notables. Las relaciones de las cosechas con y sin sales de zinc oscilaban entre 2:1 y 4,6:1, cuálquiera que fuese la sal de zinc empleada. El zinc y el hierro tienen cada uno un papel bien determinado en este caso y no puede tratarse aquí de *substitución:* porque. si se reemplaza la sal de zinc por un peso igual de sal de hierro, o recíprocamente. el peso de la cosecha disminuye de una manera marcada.

Esta extraordinaria sensibilidad de la mucedínea para el zinc aparece todavía mejor en los siguientes ejemplos. Javillier (1908) ha determinado la proporción óptima de zinc que debe introducirse en los medios de cultivo para obtener el máximo de rendimiento; llega a las conclusiones siguientes: entre 0,000025 y 0,010 gr. de zinc en el medio de cultivo, es decir, diluciones comprendidas entre una diezmillonésima y una veinticincomilésima, las cosechas alcanzan su peso máximo. En efecto, en ausencia del zinc, siendo el peso seco del micelio 1,91 gr., este peso se eleva a 4,45 gr. para 0,000025 gr. de zinc y a 4,32 gr. para 0,010 gr. de zinc. Así, pues, este metal, en la proporción de 25 milésimas de miligramo, ha bastado para determinar un aumento de peso del micelio igual a 4,45 gr. — − 1,91 gr. = 2,54 gr., o sean 140000 veces el peso del metal. Esta cantidad de zinc es 146 veces menor que la indicada por Raulin. Una proporción todavía más pequeña de zinc mejora notablemente la cosecha, porque un peso de 5 milésimas de miligramo del metal la aumenta de 0,62 gr.; permite, pues, la formación de más de 100000 veces su peso de mucedínea. Esta, además, *fija* el zinc. Fija

la *totalidad* del metal de su medio de cultivo cuando la cantidad de este metal corresponde a una dilución de $\frac{1}{250000}$ y más allá; fija una *parte* del metal de su medio de cultivo cuando la dilución es inferior a esta última cifra. El *Aspergillus* puede fijar sin daño una cantidad de zinc igual a $\frac{1}{1\,100}$ de su peso.

Si se cultiva el *Aspergillus* en un medio exento de zinc, se observa que el líquido así preparado no posee ningún poder inversivo sobre la sacarosa: no contiene, pues, sucrasa. Esta enzima, sin embargo, es segregada por las células, pero la cantidad formada, referida a la unidad de peso de la planta, es notablemente menor que en presencia del zinc, y la enzima desaparece rápidamente del micelio (Javillier, 1912). La presencia del zinc en el líquido nutritivo regula el consumo del azúcar en el *Aspergillus;* hace más económico el funcionamiento de la planta disminuyendo el gasto de mantenimiento en beneficio del gasto de construcción. El zinc influye en la utilización del nitrógeno amoniacal, y arrastra consigo otros elementos catalíticos que ascienden en la planta (hierro y manganeso) [Javillier].

Según Lepierre, el *cadmio,* cuyas analogías químicas con el zinc son conocidas, podría reemplazar a este último metal en el desarrollo del *Aspergillus;* pero, según Javillier, esta substitución no sería tan ventajosa. El *glucinio,* metal que se puede poner al lado del zinc y del magnesio, podría substituir al zinc (Lepierre, 1913); sin embargo, Javillier no ha reconocido en el glucinio ningún efecto marcado.

Según Mazé (1914), que ha estudiado la acción del zinc en una planta superior (maíz), la privación de este metal lleva consigo una incrustación salina de las hojas por evaporación. La riqueza de estos órganos en materias minerales llega a una cantidad anormal. La planta muere por intoxicación.

Ehrenberg (1911) había mencionado ya la influencia favorable del zinc en el suelo.

Otros elementos metálicos.—Según Sauton (1912), la substitución del potasio por el *rubidio*, en el líquido de Raulin en que se cultiva el *Aspergillus*, disminuye de 50 por 100 el peso de la cosecha. El *cesio* no es un alimento para la mucedínea. El potasio interviene en la formación de las esporas; la substitución de este metal por el rubidio o el cesio impide la esporulación.

Stoklasa (1913) ha demostrado que el *urano*, en forma de nitrato de uranilo, es favorable a la vegetación del *Melilotus alba*, en la proporción de 2,5 Kgs. (por 1 hectárea). La avena y el alforjón serían influídos de un modo favorable por la presencia de pequeñas cantidades de *plomo*.

En el líquido de Raulin se puede reemplazar integralmente el

zinc por el urano (proporciones inferiores a una cincomilésima). En los líquidos zíncicos, adicionados de urano, el *Aspergillus* no se desarrolla más pronto que en los medios que contienen solamente zinc. El *cobre* puederee mplazar al zinc en el líquido de Raulin, pero su influencia es menos franca que la de este último metal (Lepierre, 1913).

El *bario* es un metal que se encuentra comúnmente en muchos vegetales, especialmente en el tabaco. Tal vez sería capaz de desempeñar algún papel en las transformaciones orgánicas (Mac Hargue, 1912).

El *boro* merece mención especial. Los experimentos hechos con vegetales inferiores: *levaduras, Aspergillus, fermento láctico*, no han dado resultados favorables respecto de estos organismos, mientras que el boro aparece como un elemento muy activo con relación a vegetales superiores. Para el trigo, cultivado en líquido esterilizado, el óptimo de boro (en estado de ácido bórico) está entre 0,005 gr. y 0,010 gr. por 1000 de líquido. En medio sintético sólido, la proporción óptima corresponde a una adición de 0,05 mgr. de boro por 2 Kgs. de arena. Los ensayos efectuados en pleno campo confirman estos resultados (3 gr. aproximadamente de ácido bórico por metro cuadrado) para el maíz, la colza y el nabo. El boro se manifiesta, pues, como un elemento útil a los vegetales superiores (Agulhon, 1910).

Resulta de los hechos que acabamos de exponer que ciertos elementos minerales son susceptibles, aun en proporciones extremadamente pequeñas, de determinar sorprendentes rendimientos en las cosechas.

Será necesario ponerse en guardia respecto de una causa de error. Según los muy recientes experimentos de Javillier (1914), los vasos de vidrio que se emplean en los laboratorios contienen, a menudo, indicios de ciertos elementos, como el zinc (vidrio de Jena), cuya acción precisamente se quiere estudiar.

En resumen, la planta exige *para su construcción normal* dos clases de cuerpos simples: los primeros, como el fósforo, el azufre, el nitrógeno, el potasio, el calcio, el magnesio, deben ser puestos a su disposición en cantidades relativamente bastante grandes para formar la trama de sus tejidos, y la relación entre el peso de esta primera clase de cuerpos simples y el peso de la materia vegetal elaborada es bastante elevada. Los segundos, como el hierro, el manga-

neso, el zinc, y otros cuya utilidad todavía no está definida, no intervienen más que en cantidades mínimas. La relación entre el peso de esta segunda clase de cuerpos simples y el peso de la materia vegetal elaborada es incomparablemente menor que en el primer caso. Dicho en otros términos, si una parte del fósforo permite la construcción de 100 partes de plantas, una parte de zinc permite la construcción de 10000 partes.

Los cuerpos que forman la primera clase son llamados *plásticos;* los de la segunda deben ser calificados de catalícos o *diastásicos:* no entran en reacción ellos mismos; no actúan más que por su presencia como las diastasas propiamente dichas. Unos son agentes de oxidación, son verdaderos *portadores* de oxígeno; otros serán agentes de reducción; otros, agentes de condensación, dispuestos siempre a recobrar su estado inicial en una forma simple. Estos metales diastásicos son verosímilmente la causa de todas las transformaciones íntimas que experimentan los seres vivos en el curso de su existencia.

III

PAPEL ESPECIAL DE LOS IONES EN LA ACTIVIDAD DE LOS ELEMENTOS MINERALES

Los electrolitos, que contienen las soluciones de las sales metálicas, están más o menos disociados en sus *iones*, como hemos visto en nuestro primer capítulo (pág. 26). Los líquidos del suelo contienen en disolución extremadamente diluída las substancias salinas que la planta absorbe. Estas substancias están con seguridad completamente ionizadas en este estado, y la absorción se efectúa, en realidad, respecto de los iones siguientes: $(PO^4)^2Ca^3 = 2PO^4$ (ion negativo) + 3 Ca (ion positivo); $SO^4K^2 = SO^4$ (negativo) + K^2 (positivo); KCl = Cl (negativo) + K (positivo), etc. Invocando esta disociación de la molécula se puede explicar la actividad especial que tienen las sales en el organismo vegetal. Cuanto más ionizada esté una sal en su solución, tanto más activos serán sus elementos, es decir, sus iones. Esto ha sido comprobado de un modo notable en el estudio de los antisépticos. Así, la eficacia de las diversas sales de mercurio es tanto mayor como antiséptico cuanto más completa es la disociación en iones y por lo tanto cuantos más *iones de mercurio*

contiene la solución. Midiéndose el grado de disociación por la conductibilidad eléctrica de una solución, se ha encontrado que el cianuro de mercurio está menos disociado que el bromuro, y éste menos que el cloruro a igualdad de concentración. Así el poder antiséptico del cloruro es más enérgico que el del bromuro y el de éste más enérgico que el del cianuro.

Se comprende muy bien la facilidad con que la célula puede apoderarse de un elemento activo si éste se halla en cierto modo en estado de libertad en la solución que moja esta célula. Así es que hemos visto a la célula separar los elementos de un nitrato, por ejemplo, y luego reducir el ion NO^3, con el nitrógeno del cual fabrica albuminoides, mientras que el ion potasio de este nitrato se combina con los ácidos vegetales. Las soluciones infinitamente diluídas de fosfato tricálcico contienen el ion PO^4, del cual la celulosa se apodera para formar las lecitinas y las nucleínas, mientras que el ion calcio pasa al estado de oxalato o de carbonato. El ion es, pues, la *parte activa de la molécula*, la única que entra en juego en las reacciones biológicas.

Las substancias orgánicas están mucho menos ionizadas. Sin embargo, el ácido oxálico, en solución diluída, lo está en alto grado, y se concibe que este ácido no representa solamente un producto de excreción, que se deposita en forma de oxalato cálcico, sino que los iones que lo constituyen son capaces de entrar en un ciclo de reacciones nuevas.

CAPÍTULO X

FORMAS EN QUE SE ENCUENTRAN LAS SUBSTANCIAS MINERALES EN LAS PLANTAS

Selección mineral; excreciones.—Causas de la acumulación de las materias minerales.—Equilibrio osmótico en las diferentes partes de la planta.

Hemos estudiado, en el capítulo anterior, la naturaleza y la repartición, según los diferentes órganos, de las substancias minerales que se encuentran en la planta. Hemos hecho este estudio considerando en particular cada órgano, al cual hemos sometido a la acción de una temperatura suficiente para destruir todo vestigio de materia orgánica. Pero, hemos cuidado de hacer notar que la *agrupación* de las substancias salinas obtenida después de la incineración es evidentemente muy distinta de la que estas substancias debían tener en el vegetal normal. Conviene, pues, ahora, investigar *en qué formas y en qué estados de combinación* se hallan en la planta los principales elementos, cuya importancia hemos estudiado anteriormente.

I

FORMAS EN QUE SE ENCUENTRAN LAS SUBSTANCIAS MINERALES EN LA PLANTA

Fósforo.—Si el fósforo penetra generalmente en la planta en forma de fosfato tricálcico disuelto gracias al gas carbónico, cierta proporción de este elemento no permanece mucho

tiempo en estado mineral. En efecto, el fósforo entra en la constitución de las lecitinas y de las nucleínas que se encuentran en todas las partes del vegetal y, principalmente, en las partes jóvenes en vías de formación, así como en la semilla. Ésta contiene el fósforo en la forma principal de *fitina* (pág. 340), substancia de que ya hemos hablado. No parece que existan *fosfatos minerales* en la semilla más que en pequeña cantidad: 10 por 100 del fósforo total según algunos autores, y a menudo mucho menos. La fitina o *ácido oximetilenodifosfórico* está combinada con la cal, con la magnesia y con una parte de la potasa.

Durante el desarrollo normal de la cebada, la absorción del fósforo marcha a la par con el desarrollo de la planta hasta la completa madurez de las semillas. La transformación del fósforo mineral en fósforo orgánico es lenta antes de la época de la florescencia; pasa a ser rápida tan pronto como acaba la florescencia y se forman las semillas. Este es el momento de la producción de las nucleoproteínas (G. Balicka-Iwanowska, 1907). Los ácidos orgánicos que toda planta contiene (ácidos oxálico, cítrico, etc.), así como sus sales ácidas, ejercen una doble acción sobre los fosfatos minerales. Transforman los fosfatos insolubles en fosfatos solubles, y luego convierten a éstos en monofosfatos RH^2PO^4, en los cuales el ácido fosfórico posee casi completamente la forma de anion H^2PO^4 (Quartaroli, 1905).

En resumen, los fosfatos, si penetran en el vegetal en forma de fosfato tricálcico, sufren cambios profundos cuando encuentran sales orgánicas alcalinas o sales magnésicas: el ácido fosfórico avanza hasta la semilla, la cual contiene siempre importantes cantidades de potasa, y a menudo de magnesia, pero solamente indicios de cal.

En las hojas y en el tallo, se encuentra a veces fosfato tricálcico y, según una opinión corriente, *malofosfato;* pero, el fósforo se halla allí sobre todo formando parte de moléculas orgánicas complejas. Sin embargo, es cierto que, cuando el fósforo cambia de sitio y emigra, por ejemplo, de la hoja a la semilla, debe tomar una forma difusible: esta difusión probablemente se efectúa en estado mineral. Durante la germi-

nación, la mayor parte del fósforo orgánico recobra este estado mineral para emigrar a los órganos nuevamente desarrollados.

Los tallos subterráneos, rizomas, bulbos, tubérculos, contienen muy frecuentemente fosfato tricálcico; pero, éste está principalmente en combinación con la materia albuminoidea, como vamos a ver.

En efecto, si se rallan patatas y se somete la pulpa obtenida a la acción de una presión enérgica, escurre un zumo amarillento, que contiene granos de fécula en suspensión, y materias nitrogenadas y minerales. Este zumo no tarda en ennegrecerse a causa de la presencia de las oxidasas. Si se deja posar algún tiempo y se decanta la parte límpida, es fácil demostrar que este líquido contiene grandes cantidades de fósforo en un estado especial. Si se calienta este líquido, no tarda en enturbiarse y, a medida que aumenta la temperatura, invaden la masa grandes copos de una materia grisácea. Si ahora filtramos, observaremos que los copos que quedan encima del filtro desprenden, cuando se calcinan con cal sodada, vapores amoniacales. Estos copos son, pues, ricos en nitrógeno. Si, por otra parte, los incineramos y analizamos las cenizas resultantes, descubriremos fácilmente en ellas la presencia del ácido fosfórico, de la cal y de la magnesia.

Este experimento no demuestra que el fósforo se encuentra en el coágulo producido por el calor en estado de fosfato cálcico o magnésico, es decir, en forma exclusivamente mineral. Es probable que, si una parte del fósforo se halla en estado mineral, otra parte, tal vez la más abundante, debe encontrarse *en una forma orgánica*. Pero, lo que demuestra este experimento es la *asociación íntima* que existe entre la materia nitrogenada y el fósforo, cualquiera que sea la forma que este último afecte.

Sometiendo semillas a la acción prolongada del agua, se provoca, con el tiempo, la exósmosis de las materias minerales que contienen. Así es que, si se inmergen granos de trigo en agua fría, hecha aséptica por la adición de algunas gotas de formol, se encuentra, al cabo de 280 días, que 79,77 por 100 del fósforo y 99,22 por 100 de la potasa han pasado al líquido exterior. Admitiendo que las

cuatro quintas partes aproximadamente del fósforo contenido en la semilla se encuentran en ella en estado de *fitina*, se observará que los productos hidrolíticos del desdoblamiento de esta última substancia (inosita, ácido fosfórico, potasa) han salido por exósmosis en totalidad, aunque lentamente, fuera del órgano.

Los tubérculos de las patatas dan resultados análogos: los dos tercios del ácido fosfórico y casi la totalidad de la potasa que contienen pasan al agua fría, en que se han dejado estos tubérculos durante un tiempo suficientemente largo (G. André, 1911-1912).

Cuando el nitrógeno emigra fuera de un órgano, el fósforo le sigue casi siempre en esta migración; generalmente existe una estrecha relación entre la riqueza de un órgano en fósforo y su riqueza en nitrógeno. Citaremos ejemplo de ello a propósito de la maduración de las semillas.

Azufre. — Las plantas terrestres no contienen más que poco azufre en forma de sulfatos. Estos (principalmente sulfato cálcico), desde que han penetrado en el vegetal, se reducen y son empleados en la construcción de las substancias albuminoides, las cuales contienen siempre un núcleo sulfurado de *cistina* (pág. 256). Recíprocamente, sabemos que, durante la germinación, este núcleo sulfurado se descompone, y que el azufre reaparece momentáneamente en estado de sulfato mineral (pág. 339). Muchas semillas de crucíferas contienen glucósidos sulfurados (pág. 195). Una semilla contendrá tanto más azufre orgánico cuanto más rica sea en albuminoides; sin embargo, esto dista mucho de ser así en absoluto.

El azufre es tomado, a veces, del suelo en cantidades considerables, contra los datos que han sido publicados basados en los análisis de las cenizas. Así, los cereales toman frecuentemente del suelo un peso de azufre próximo a los dos tercios del peso del fósforo que de él toman. Ciertas plantas de prado exigen tanto azufre como fósforo, y algunas crucíferas exigen más azufre que fósforo.

Dehérain ha señalado en las plantas marinas la afinidad particular que se manifiesta entre los sulfatos y los tejidos de estas plantas. Si se comparan los análisis del agua del mar con los de las cenizas de un *Fucus*, se observa que los dos tercios del residuo salino del agua del mar están formados por sal común: en cuanto a las cenizas

de *Fucus,* apenas contienen de ella más que una cuarta parte de su peso. Los sulfatos, mucho menos abundantes que los cloruros en el agua del mar, predominan en las cenizas de *Fucus*. Si se hacen hervir con agua fragmentos de *Fucus* a fin de disolver las sales solubles, se observa que el agua disuelve sobre todo cloruros y muy pocos sulfatos. Se puede deducir de esto que los cloruros y los sulfatos no existen en la planta en el mismo estado de combinación.

La acción del calor, en el momento de la incineración, ha destruído probablemente *algún compuesto sulfurado,* que se encuentra en las cenizas en forma de *sulfatos.*

Cloro. — Este cuerpo existe en las plantas en forma de cloruros. Hemos visto anteriormente (pág. 463) lo que debía creerse respecto de su papel fisiológico. Los cloruros que las plantas marinas contienen parecen estar menos sólidamente unidos al tejido del vegetal que los sulfatos, como hemos dicho antes. De todos modos, en algunas algas ocurre lo contrario.

Yodo.—Las cenizas de los *Fucus* son bastante ricas en yodo. El papel de este cuerpo simple, desconocido en los vegetales, debería llamar, sin embargo, la atención a causa de su presencia y de su utilidad innegable en ciertos órganos animales (glándula tiroides), donde existe en estado de compuesto yodoorgánico. Tal vez se halla en algunas plantas en estado semejante.

En efecto, si se hacen hervir con agua fragmentos de *Fucus*, no es posible demostrar la presencia del yodo en el líquido filtrado. Pero, si se incinera el residuo insoluble, se puede comprobar fácilmente la presencia de este cuerpo en las cenizas así obtenidas. Parece, pues, que, a lo menos en algunas plantas marinas, pueden existir compuestos yodados de naturaleza orgánica. Según Scurti (1906), el yodo desempeñaría en las algas marinas el papel del cloro en las fanerógamas: sería un excitador de la reproducción.

Silicio.—La sílice, tan abundante en ciertos órganos, no parece entrar en combinación orgánica definida. Según Dehérain, existiría en dos estados. En efecto, unas veces resiste a la acción de las soluciones alcalinas débiles y calientes y otras veces se disuelve fácilmente en ellas. Este hecho se comprueba en muchos órganos de la planta.

Se trata la parte sometida al experimento por una solución débil (1 a 2 por 100) de sosa o de potasa hirviente, renovando el agua a medida que se evapora. Se lava luego con ácido clorhídrico diluído para eliminar el álcali, y después con agua. Se busca en seguida en la parte insoluble así lavada si existe todavía sílice después de la incineración. Estos experimentos son esencialmente comparativos; duran el mismo tiempo. Se encuentran, por ejemplo, resultados como los siguientes:

	SiO^2 en 100 partes de cenizas de la planta normal	SiO^2 en 100 partes de cenizas de la planta tratada
Trigo verde no florido .	40	87
Paja de trigo	70	93
Madera de roble . . .	21	0

La paja del trigo ha cedido, pues, a la solución alcalina, y luego al ácido clorhídrico, casi todas las materias minerales fuera de la sílice: ésta, por el contrario, ha resistido a estos reactivos y forma casi la totalidad de las cenizas. La madera de roble, por el contrario, ha perdido con el tratamiento alcalino toda la sílice que contenía. Las diversas hojas dan resultados análogos; unas veces ceden casi toda su sílice a los álcalis, otras solamente se disuelve una parte de esta sílice.

Las variaciones de la solubilidad de la sílice en el tallo del trigo presentan las siguientes particularidades. Al principio de la vegetación las tres cuartas partes de la sílice son insolubles en la solución de potasa al décimo; antes de la florescencia, esta sílice es completamente soluble, después su solubilidad disminuye y llega a ser muy escasa en el tallo completamente desecado (Berthelot y André, 1892).

La sílice que contienen los vegetales desaparece totalmente cuando se la trata con el ácido fluorhídrico; no está, pues, combinada con ninguna base.

Potasio.—Este metal, a menudo muy abundante en las plantas, y principalmente en las raíces carnosas y en los tubérculos, se encuentra en estado de sales. Está combinado, ya con ácidos minerales, ya con ácidos orgánicos.

Se encuentra en los jugos de las plantas cierta cantidad de fosfato potásico y sobre todo de nitrato potásico. Este último procede directamente del suelo; se encuentra de preferencia en los tallos (pág. 236), donde forma con frecuencia una especie de reserva.

Cuando el nitrato potásico es descompuesto y el ácido nítrico ha sido empleado en la elaboración dela materia albumi-

noide, el potasio, que ha quedado libre, se combina con los ácidos orgánicos, cuya síntesis conocemos. Los principales de estos ácidos a que se une el potasio son los ácidos oxálico, tartárico, málico y cítrico. En esta forma, el potasio es muy difusible y va a almacenarse en los órganos subterráneos carnosos (zanahoria, remolacha, etc.) o en los frutos. Cuando se extrae con agua fría un tejido rico en sales potásicas, no se logra más que difícilmente separar la totalidad de la potasa; el empleo prolongado del agua hirviente permite, por lo general, llegar completamente a la extracción total. Se ha emitido alguna vez la opinión de que una parte de la potasa, mayor o menor según el órgano considerado, era insoluble en el agua. Nosotros creemos que no existen sales insolubles de potasa en los vegetales, pero, tal vez algunas sales dobles son poco solubles, las cuales, sin embargo, no resisten a la acción prolongada del agua caliente. Por otra parte, el bitartrato potásico especialmente, es una sal muy poco soluble en el agua fría. De todos modos, Berthelot (1905-1906) ha llamado la atención respecto de la presencia de ciertos compuestos alcalinos, del grupo de los humatos, que existen en los vegetales y que serían insolubles en el agua.

Calcio, magnesio. — El calcio se encuentra, ya en forma mineral de carbonato cálcico cristalizado, ya en forma de oxalato insoluble, del que ya hemos hablado, o ya tal vez en forma de nitrato soluble. El bicarbonato cálcico, ligeramente soluble en los líquidos cargados de gas carbónico, constituye la forma difusible de la cal. Cuando el gas carbónico se desprende, se produce un precipitado de carbonato neutro o bien se forma oxalato.

El magnesio circula igualmente en la planta en estado de bicarbonato soluble.

El calcio y el magnesio pueden también ascender en la planta en estado de *sulfatos* que existen naturalmente en el suelo o en los abonos empleados.

II

SELECCIÓN MINERAL.—EXCRECIONES

Llegamos, pues, a esta conclusión: la planta toma del suelo las materias fijas en forma *exclusivamente mineral,* haciendo, sin embargo, las salvedades que hemos expuesto en la página 111. Por otro lado, estas materias minerales generalmente contraen combinaciones con tales o cuales elementos orgánicos que encuentran en los diversos tejidos. Por consiguiente, hay motivo para investigar por qué mecanismo se produce esta acumulación. Pero, si todas las plantas contienen *cualitativamente* las mismas substancias fijas, no ocurre lo mismo respecto del punto de vista cuantitativo: existe, pues, una especie de *selección* que hace cada planta entre los elementos del suelo. Ya hemos llamado la atención sobre este punto.

Esta selección ha sido atribuída primero a una diferencia en la estructura de las raíces en los diversos vegetales: así, unos absorberían de preferencia una substancia que no podría penetrar en otros. Esta diferencia, en realidad no existe.

Es posible hacer absorber a un vegetal, que vive en una solución acuosa artificial, materias que no absorbería en las condiciones naturales, sobre todo cuando el vegetal es joven. Esto es lo que ocurre a la habichuela que, cultivada en soluciones de sal común, cuando no ha vaciado todavía sus cotiledones, absorbe esta sal, mientras que, cultivada en las condiciones ordinarias, sólo absorbe indicios (Dehérain).

Esta selección ha sido también explicada mediante una hipótesis en que se hacía intervenir la *excreción* de las raíces: éstas absorbían todas las substancias que están en contacto con ellas y, en un momento dado, se librarían de algunas devolviéndolas al suelo.

En presencia de la infinita variedad de vegetales que crecen en la superficie del globo, se presenta inmediatamente una cuestión. ¿Existe una relación entre los caracteres botánicos de una planta

y la naturaleza y la cantidad de las substancias minerales que esta planta toma del suelo? La diferencia de composición entre las leguminosas y las gramíneas es, según se sabe, muy marcada. Ha sido atribuída, entre otras razones, a la facultad que poseen las primeras de apoderarse del nitrógeno del aire y de tener las raíces más profundas que las de las gramíneas.

A fin de comparar las diferencias de estas dos familias, se puede formar un cuadro, como ha dicho Strigel (1913), de la composición media de cuatro leguminosas (*Medicago sativa, Ornithopus sativus, Trifolium pratense, Vicia sativa*) y de la composición media de cinco gramíneas (*Phelum pratense, Festuca rubra, Poa pratensis, Agrostis stolonifera, Aira cæspitosa*). (El autor ha dado la composición completa de cada especie.) Las cifras que siguen a continuación representan las cantidades de los diversos elementos contenidos en pesos iguales de cosecha seca de las dos familias. La comparación se establece tomando el peso de cada elemento existente en las leguminosas como igual a 100.

	CaO	MgO	K^2O	Na^2O	P^2O^5	SO^3	Cl	SiO^2	N
Leguminosas.	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Gramíneas. .	22	37	73	44	71	42	77	248	34

Las diferencias más marcadas se refieren a la cal, la magnesia, el ácido sulfúrico, el nitrógeno y, sobre todo, la sílice; son menos marcadas respecto de los demás elementos. Pero, debe añadirse que existen grandes divergencias entre los diversos individuos de estas dos familias, según los años considerados. En resumen, se puede decir, de una manera general, que las gramíneas, excepción hecha respecto de la sílice, son menos aptas para tomar del suelo las materias minerales que las leguminosas.

Sin embargo, si la diferencia botánica lleva consigo divergencias notables en la composición mineral, parece que no ocurre lo mismo cuando se hace la misma comparación respecto de otras familias. Strigel ha analizado, bajo este concepto, un gran número de plantas espontáneas pertenecientes a familias muy variadas y no ha encontrado nada característico. En una misma familia, y sobre todo de un año a otro, existen con frecuencia entre dos especies vegetales diferencias notables en su composición. Además, las influencias exteriores (temperatura, cantidades de agua recibidas, iluminación, naturaleza física y química del suelo) tienen una influencia muy grande en lo que se refiere a la ascensión de los elementos fijos en una planta.

Excreciones de las raíces.—Todas las raíces excretan una substancia ácida (en la cual predomina el ácido cítrico según muchos autores). Si se hacen germinar semillas sobre papel azul de tornasol, se observa que, en el sitio donde las

raíces han estado en contacto con este papel, se han formado manchas rojas, indicio de la salida, fuera de la raíz, de un líquido de reacción ácida.

Estas excreciones ácidas se efectúan por los *pelos absorbentes*.

Se conocen también los resultados del experimento de Sachs, que consiste en hacer germinar una semilla encima de una placa de mármol bien pulimentada, espolvoreada de arena húmeda. Al cabo de algunos días, si se quita la arena, se observa que las raíces han abierto un delgado surco en la placa. Hay, pues, secreción de una substancia ácida que ha disuelto el calcáreo.

Un vegetal puede utilizar el fósforo del fosfato tricálcico. Éste es insoluble o extremadamente poco soluble en el agua. Las secreciones ácidas de la raíz intervienen muy verosímilmente aun aquí para solubilizar la sal. Lo mismo ocurre con estas secreciones respecto de los compuestos potásicos del suelo, la mayor parte del tiempo insolubles en el agua. Esta acción de corrosión de una materia alimenticia indispensable al vegetal es, pues, bien real. Esto no quiere decir que toda substancia mineral insoluble no penetra en la planta más que por este solo mecanismo, porque, en la tierra de labor, no se puede propiamente hablar de materias minerales completamente insolubles. En contacto con el agua, más o menos cargada de gas carbónico, todas las materias minerales se disuelven y suministran así, aun cuando en un estado de gran dilución, la mayor parte de las soluciones de que se apoderan directamente las raíces. Por lo demás, la raíz, al respirar, desprende continuamente gas carbónico, el cual se añade al del suelo que procede de la atmósfera y al que desprenden las numerosas fermentaciones que se efectúan en la capa de tierra. Según muchos experimentadores, el gas carbónico excretado por las raíces poseería principalmente las propiedades corrosivas que antes hemos recordado.

En un estudio sobre la nutrición del *Aspergillus* en presencia de un exceso de nitrato amónico, C. Tanret (pág. 242) ha sido el primero en demostrar que esta mucedínea es capaz de excretar *ácidos libres* (nítrico, sulfúrico, clorhídrico)

correspondientes a las sales amoniacales que han sido puestas a su disposición en el líquido de cultivo.

Llegamos ahora al estudio de las excreciones de materias salinas *fijas*. La existencia de estas excreciones ha sido negada mucho tiempo, y algunos experimentos parecen apoyar la opinión de que cuando una substancia fija habría penetrado en la planta, ésta debería conservarla integralmente durante toda su vida. Sin embargo, existen razones de carácter téorico que se oponen a la admisión de una noción tan absoluta. En efecto, del mismo modo que hay cambios salinos entre el suelo y la raíz en virtud de las leyes de la ósmosis, es natural creer que puede producirse un movimiento inverso en ciertos casos que falta definir.

En efecto, esta *pérdida de materia fija* ha sido frecuentemente comprobada. En una serie de antiguos experimentos hechos con el trigo, en 1862 y 1864, Is. Pierre había observado que, en la cosecha entera y completa, el peso del nitrógeno y el del ácido fosfórico dejan de aumentar mucho tiempo antes de la madurez; en la época del espigado es cuando ocurre este cese. En el momento de la madurez, estos elementos hasta presentan una tendencia a la disminución. Según el mismo autor, el peso total de los álcalis, después de haber alcanzado su máximo, un mes antes de la madurez de la cosecha aproximadamente, experimenta después una notable disminución. Comprobaciones análogas han sido hechas en la colza.

Is. Pierre no ha pronunciado la palabra *excreción* para tratar de justificar esta pérdida de elementos nutritivos. Se contenta con decir: «*Supongamos que, durante las últimas semanas de su vida, la planta cesa de apropiarse el nitrógeno de las fuentes encargadas de alimentarla. Las partes más viejas, ya más o menos completamente atrofiadas, podrán experimentar un principio de alteración, de desorganización, de donde podrá resultar una pérdida de nitrógeno y de otros principios alterables o solubles.*»

Es evidente que la caída prematura de ciertos órganos (hojas) debe hacer perder al vegetal una proporción apreciable de materias salinas: pero, no se trata aquí de excreciones en el propio sentido de la palabra.

Pérdidas de álcalis en el cultivo de los cereales. — Desde la época en que Is. Pierre señaló los hechos que acabamos de mencionar, la existencia de pérdidas salinas, especialmente entre la florescencia y la madurez completa, ha

sido con frecuencia comprobada en casos particulares, pero en los cuales la toma de muestras, entre otras condiciones, dejaba a veces que desear.

Con los experimentos de Joulie sobre los cereales (1894), la noción de excreción se precisa. En sus bellas investigaciones, este autor ha demostrado que, generalmente, el peso de la materia seca aumenta hasta la perfecta madurez de la cosecha. Entre la florescencia y la madurez hay unas veces pérdida y otras ganancia de nitrógeno, según la especie cultivada y según las condiciones climatológicas. Lo mismo ocurre con el ácido fosfórico: las diferencias, positivas o negativas, no obedecen a ninguna ley regular.

Pero, por lo que toca a la potasa, esta base se elimina parcialmente *de una manera constante* entre las dos épocas antes indicadas: Joulie no ha observado ninguna excepción de esta regla.

Se puede adelantar, para explicar la pérdida de potasa, que esta base no contrae combinaciones insolubles en el cuerpo de la planta, y que, si la solución potásica es más concentrada en el vegetal que la que está en contacto con las raíces, el álcali volverá al suelo en virtud de los fenómenos de la ósmosis, según hemos dicho anteriormente.

Además, Joulie admite la existencia de una *excreción foliácea.* Lava, proyectando agua destilada, los tallos verdes del trigo provistos de sus hojas y suspendidos por la raíz encima de una cápsula. El líquido del lavado deja, después de evaporación, un residuo salino en el cual es posible caracterizar la presencia de la potasa.

Sentado esto, vamos ahora, mediante un sencillo cálculo, a demostrar de una manera indirecta que, cuando las plantas avanzan en edad, ciertas bases que estas plantas habían primero absorbido, parecen volver al suelo. Además, este cálculo llamará nuevamente nuestra atención hacia el problema de la nutrición nitrogenada, desde el punto de vista de la *forma* en que el nitrógeno penetra en el vegetal.

Explicaciones de Warington.—He aquí las consideraciones que Warington ha desarrollado respecto de este tema (1900). Está generalmente admitido que las plantas del gran cultivo toman su nitrógeno en forma de nitratos, a excepción de las leguminosas. Cuando los nitratos son descompuestos en los tejidos y su nitrógeno pasa al estado de albuminoides, las bases que con ellos estaban combinadas se unen a los ácidos orgánicos del vegetal. Si todo el nitrógeno de una cose-

cha procede de los nitratos, y si las bases de estos nitratos no sufren ninguna pérdida, se debe encontrar en las cenizas de la planta una proporción de bases salificables equivalente a la del nitrógeno.

El mejor medio de hacer el cálculo de repartición de las bases contenidas en las cenizas consiste en restar de las bases totales lo que corresponde a los ácidos minerales encontrados en las cenizas (cloro, PO^4H^3) y atribuir la diferencia al ácido nítrico. La media de un gran número de análisis ha dado las siguientes cifras, que representan, en el momento de la cosecha, la *cantidad de base salificable por 100 de bases correspondiente al nitrógeno* (si todo el nitrógeno estuviese combinado en estado de sal se tendría la cifra 100):

Trigo	Cebada	Avena	Heno de prado	Heno de trébol	Nabos	Remolachas
20	25	34	70	80	70	92

Por lo tanto, solamente respecto de la cosecha de remolachas las cenizas contienen una proporción de bases correspondiente a muy corta diferencia al nitrógeno suponiéndole en estado de nitrato. En todos los demás casos la base está en cantidad muy inferior a lo que exige la teoría de la nutrición mediante los nitratos.

La conclusión que debe sacarse de estos experimentos es, pues, la siguiente: o bien la mayoría de las plantas no toman del suelo más que sólo una fracción de su nitrógeno en forma nítrica, o bien las bases, después de haber penetrado con el nitrógeno nítrico en la planta, abandonan ésta antes de la cosecha.

El mismo cálculo ha sido hecho respecto de la avena en diferentes momentos de su vegetación, a fin de que no hayan errores relativos a la caída de las hojas durante la desecación de la planta. Se encuentran entonces los resultados siguientes:

10 de junio. 30 centím. de altura	30 de junio. 60 centím. de altura	10 de julio. 82 centím. florescencia terminada	21 de julio. Principio de la maduración	31 de julio. Maduración terminada
41	44	43	31	27

La proporción de las bases es, pues, sensiblemente constante en los tres primeros análisis, es decir, mientras la planta es verde; esta proporción representa los $\frac{40}{100}$ de la que correspondería al nitrógeno; pero, desde que principia la maduración, disminuye y baja finalmente a $\frac{27}{100}$.

Warington se pregunta si, en presencia de estos fenómenos, no debe concluirse por admitir la excreción por las raíces de la parte soluble de las sales que contiene el vegetal. En efecto, aun admitiendo que todo el nitrógeno no penetra en la planta en estado de nitrógeno nítrico, este descenso en la proporción de las bases salificables en el momento de la madurez, podría explicarse así: cuando el cereal madura, se deseca gradualmente y, por consiguiente, sus jugos se concentran. Por lo tanto, puede haber, en esta época, difusión de los líquidos de la planta al suelo en virtud de las leyes de la ósmosis.

Variación de la riqueza salina de una planta durante su evolución.—Los hechos expuestos por Warington son, en realidad, bastante generales. En una serie de experimentos muy bien dirigidos, Wilfarth, Römer y Wimmer (1906) han observado las siguientes variaciones, calculadas para la superficie de una hectárea, de la riqueza de las cosechas en substancias fertilizantes, en el curso de la vegetación de ciertas plantas.

Cebada.—I: cosecha en 29 de mayo de 1903; II: 17 de junio; III: 3 de julio; IV: 27 de julio.

Trigo.—I: cosecha en 22 de junio de 1903; II: 14 de julio; III: 5 de agosto; IV: 28 de agosto.

Patatas.—I: cosecha en 17 de junio de 1903; II: 16 de julio; III: 18 de agosto; IV: 5 de octubre. (En la columna encabezada *proporciones relativas*, el peso máximo ha sido tomado como igual a 100.)

		Cebada		Trigo		Patatas	
		Peso total kgs.	Proporciones relativas	Peso total kgs.	Proporciones relativas	Peso total kgs.	Proporciones relativas
Nitrógeno	I. .	57,26	66,15	89,59	69,92	50,51	40,48
	II. .	86,56	100,00	97,90	76,40	83,31	66,72
	III. .	71,26	82,32	128,14	100,00	116,46	93,27
	IV. .	64,52	74,54	103,36	80,66	124,86	100,00
Ácido fosfórico	I. .	21,25	48,58	21,62	45,81	9,48	29,98
	II. .	41,13	94,03	35,62	75,48	17,07	53,98
	III. .	43,74	100,00	47,19	100,00	28,74	90,89
	IV. .	40,79	93,26	46,85	99,28	31,62	100,00
Potasa	I. .	82,80	57,91	99,22	71,68	53,18	33,00
	II. .	142,98	100,00	138,43	100,00	88,14	54,69
	III. .	120,43	84,23	137,00	98,97	126,29	78,36
	IV. .	92,89	64,97	81,50	58,87	161,17	100,00

Resulta de la inspección de estas cifras que, en la cebada y en el trigo, las pérdidas en ácido fosfórico son escasas, las del nitrógeno más considerables, y las de la potasa muy notables. Pero, en el caso de la patata, la ganancia en materias fertilizantes va constantemente creciendo hasta el fin de la vegetación; como si el almacenamiento de las substancias nutritivas por los tubérculos se opusiera a una exósmosis de estas substancias hacia el suelo. Esta gran proporción de potasa que la cebada y el trigo toman del suelo, en la época de la mayor actividad de la vegetación, coincide con los principios de la maduración: parece que la planta se deshace del exceso de álcali desde que la función asimiladora comienza a declinar.

Añadamos también que los ensayos que nosotros hemos hecho con la cebada en pleno campo (1911-1912) nos han llevado a formular la siguiente conclusión, conforme con los trabajos de Joulie: Si, hasta la época de la madurez completa de este cereal, los elementos fundamentales: nitrógeno, fósforo, azufre, cal, magnesia, aumentan continuamente en peso absoluto, la potasa y la sosa, por el contrario, son eliminadas fuera de la planta *a partir del principio de la florescencia*. En un experimento inédito que nos ha comunicado, Demoussy ha cultivado cebada en arena calcinada, provista de las materias minerales indispensables y adicionada de nitratos como fuente de nitrógeno. Al fin de la vegetación, las plantas han sido analizadas, y los resultados obtenidos, sometidos al cálculo de Warington antes indicado, han permitido comprobar que había déficit de bases (40 por 100). Aquí, en particular, parece que realmente se trata de una excreción de materia, porque el nitrógeno evidentemente no ha penetrado en la planta más que en forma salina (nitratos). Además.

habiendo sido hecho el experimento bajo abrigo, no podría invocarse el lavado de las hojas por el agua de lluvia.

Sin embargo, se pueden citar ejemplos en que la eliminación de substancias salinas no parece efectuarse durante el curso de la vegetación normal: hablando más exactamente, todas las materias fijas indispensables para la vida del vegetal presentan un peso máximo en la época de la madurez completa. Tal es el caso de la remolacha antes señalado en los experimentos de Warington; lo mismo ocurre con la patata en los de Wilfarth, Römer y Wimmer; lo mismo también ocurre en el caso de tres plantas, *clavel, aspérgula, lino,* que nosotros hemos estudiado especialmente en este concepto. En el momento de la madurez perfecta, todos los elementos salinos, lo mismo que el nitrógeno, alcanzan su peso máximo.

Relación de saturación entre las bases y los ácidos. —Volvamos a ocuparnos ahora, pero de un modo más completo, en el cálculo de Warington aplicándolo a dos plantas: la cebada y la aspérgula, en las cuales hemos efectuado la determinación de todas las substancias nutritivas. La toma de muestras de estas plantas ha sido hecha más fácil y correcta dejando, en el momento de la siembra, entre cada dos semillas un espacio de 10 centímetros.

El cálculo de la saturación de las bases por los ácidos puede hacerse de la siguiente manera. El ácido fosfórico, suponiéndole saturado, corresponde a 3 átomos de nitrógeno ($N^3 = 42$), el ácido sulfúrico a 2 átomos ($N^2 = 28$), el cloro a 1 átomo ($N = 14$); cada una de las bases CaO, MgO, K^2O, Na^2O, a 2 átomos de nitrógeno ($N^2 = 28$). La sílice ha sido considerada como libre en el cuerpo del vegetal.

He aquí lo que se encuentra respecto de la *cebada,* cuyas recolecciones fueron hechas en las épocas que a continuación se indican:

En la planta total, nitrógeno no representado por bases por 100 de nitrógeno total.	10 jun. 1911 (espigas aparentes)	25 de junio (florescencia)	7 de julio (principios de la maduración)	20 de julio (maduración completa)	2 de agosto (maduración pasada)
=	45,04	55,22	75,08	79,78	91,35

Estos números crecen en el sentido indicado por Warington: el déficit en bases aumenta a medida que la planta avanza en su edad.

La conclusión que parece deducirse de esto es la siguiente: o bien una parte de las bases, absorbidas en el curso de la evolución de la planta, vuelve al suelo, y esto en cantidades tanto mayores cuanto más se acerca el vegetal al término de su evolución, o bien una parte a lo menos del nitrógeno ha penetrado en la planta en una forma distinta a la de nitrógeno nítrico. Volveremos más adelante a este punto especial.

Sin embargo, si la mayoría de las plantas se comportan como las que ha examinado Warington, y como la cebada en particular, es posible observar el fenómeno inverso en el cual se encuentra un exceso de bases con relación a la cantidad susceptible de formar sales con los ácidos nítrico, fosfórico, sulfúrico y clorhídrico.

En efecto, he aquí lo que resulta del mismo cálculo aplicado a una planta anual, la *aspérgula,* cuyos elementos minerales no habían sufrido ninguna pérdida durante el curso de su vegetación:

	20 mayo 1912 (principios de la florescencia)	14 de junio (florescencia)	28 de junio (principios de la fructificación)	15 de julio (fructificación)	29 de julio (fructificación completa)
En la planta total, nitrógeno en exceso (+) o en defecto (—) con relación a las bases, por 100 de nitrógeno total	+ 16,29	—50,02	—60,72	—30,96	—22,20

Resulta de la inspección de estas cifras que la primera toma de muestras sólo da una cierta cantidad de nitrógeno (1/6 aproximadamente) no saturado por las bases. En las otras cuatro tomas hay excedente de bases. Se puede, pues, creer, que la cal y la magnesia han penetrado en la planta en forma de bicarbonatos: la absorción ha sido máxima al fin de la florescencia, después ha disminuído.

Cultivos en medio líquido aséptico. — Si se emplean cultivos en medio líquido aséptico para estudiar los cambios minerales entre la planta y las soluciones salinas que se ponen a su disposición, he aquí lo que se observa:

Mazé (1911) ha seguido el desarrollo del maíz en la solución acuosa cuya fórmula ha sido indicada en la página 458. Al cabo de cierto número de días de vegetación, se observa, valorando la solución, que la sosa, procedente del nitrato y no utilizada por la planta, ha sido excretada. A consecuencia de sus experimentos, el autor concluye que el vegetal se libra de las substancias que no puede emplear. Si, en los alimentos minerales que se le ofrecen, es asimilada la base, el ácido vuelve a la solución nutritiva; inversamente, si el ácido es retenido, la base será excretada. El nitrato y el fosfato sódicos producirán siempre una alcalinización del líquido primitivo; el sulfato y el cloruro amónicos lo dejarán neutro.

Fijándose en una idea ya antigua, este mismo autor observa que la abundancia de las *gotas* que rezuman de los *estomas acuíferos* está en relación con la asimilación: se encuentran en ellas nitratos, sales amoniacales, cloruros, sulfatos, substancias orgánicas. También

se ha encontrado ácido nitroso; éste no procedía de una reducción de los nitratos, porque la planta había sido criada en una solución aséptica que no contenía nitratos. El ácido nitroso parece ser un producto normal de la savia de los vegetales (pág. 237), y su concentración está en razón inversa de la actividad vegetal. [Digamos de paso que Modderman había señalado, hace mucho tiempo (1888), la presencia de nitratos en el líquido procedente de la exudación de las hojas de *fuchsia*. Este autor creía que estos nitratos procedían del suelo, el cual, sin embargo, no los contenía más que en indicios.]

Nobbe y Siegert (1864) han notado la formación de eflorescencias de cloruro potásico en los tallos y en las hojas del alforjón, cuando se cultivan estas plantas en soluciones salinas algo concentradas. En pocas palabras, la planta trataría de desposeerse de las substancias salinas (ácidas o básicas) que habría absorbido en exceso: las excreciones radicales o foliáceas serían, pues, para ella un medio de defensa.

De todas maneras, se impone aquí una salvedad. Por lo que toca a los ensayos de vegetación hechos en soluciones acuosas asépticas, a pesar del interés que ofrece este modo de experimentación, se puede decir que estos ensayos se presentan en condiciones bastante alejadas de las condiciones normales. La tierra de labor no podría compararse a un líquido de cultivo; constituye un medio *esencialmente discontinuo* que, en los casos ordinarios, no contiene más que 25 por 100 de agua y en el cual, a causa de su misma estructura existe, para la posesión del agua, una lucha continua entre los granos de arena y las raíces de la planta que se introducen entre estos granos. Además, las disoluciones del suelo son infinitamente más diluídas que las que se ofrecen artificialmente a los vegetales. Su verdadera composición, que varía por la acción de múltiples influencias de carácter químico, escapa a toda definición.

Conclusiones.—Desde el punto de vista de las leyes de la ósmosis, la salida fuera del vegetal de las substancias solubles que éste contiene sería admisible, puesto que la concentración de las soluciones salinas en el cuerpo de la planta es notablemente superior a la de las soluciones del suelo. Pero, observemos que, durante el día, la luz solar ejerce sobre la transpiración de la planta una acción muy enérgica; la corriente líquida es ascendente y parecería que debe oponerse a todo movimiento inverso. No sería, pues, más que durante la noche, en que los fenómenos de transpiración son muy atenuados, cuando podría efectuarse la vuelta al suelo de las soluciones salinas que la planta contiene.

Entre las posibles consecuencias que hace entrever el

fenómeno excretorio, debe citarse, entre otras, la siguiente observación. La excreción de iones, tales como SO^4 o Cl, cuando se da al suelo sulfato o cloruro potásicos, la excreción del ion Na en el caso de la adición de nitrato sódico, permitirían explicar por qué el suelo se vuelve poco a poco ácido en el primer caso y básico en el segundo (Breazeale y Le Clerc, 1912).

Según algunos autores — y ésta es una opinión que tiende a generalizarse,—la separación de las sales en iones ácidos y iones básicos se efectuaría en el mismo nivel de la raíz. La de la *Cucurbita pepo*, en la primera fase de su desarrollo, sería capaz de separar el anion del cation, absorbiendo de preferencia el anion (sales empleadas: KCl, $CaCl^2$, K^2SO^4, $CaSO^4$, KH^2PO^4, $CaHPO^4$). Esta absorción electiva sería a veces tan marcada que el anion podría ser completamente substraído al líquido exterior, el cual sólo retendría el cation. El catión Ca sería absorbido de preferencia al catión K. Las membranas de la raíz se comportarían de diferente manera respecto de los diversos iones (Pantanelli y Sella, 1910).

Según Brocq-Rousseu y Gain (1910), las raíces de todas las plantas vasculares segregan diversas diastasas por medio de las cuales actúan sobre tales o cuales materias orgánicas que estas diastasas pueden digerir.

Sin embargo, entre los puntos obscuros que presenta la concepción de la posible vuelta de las materias salinas al suelo, es conveniente señalar el siguiente, sobre el cual hemos llamado la atención al hablar de la repartición de los nitratos en los vegetales en los diversos períodos de la existencia de los que acumulan fácilmente estas sales. Se observa el hecho de que el nitrato potásico, que a medida de su absorción es transformado en nitrógeno albuminoide en la época de la maduración de las semillas y presenta entonces un peso absoluto mínimo, reaparece en el vegetal al fin de la fructificación con un peso absoluto, superior a veces a todos los precedentes, puesto que ya no encuentra empleo (pág. 236). Parecería, sin embargo, que este nitrato debería volver al suelo, porque su concentración en la planta es incomparablemente mayor que la de los nitratos que contiene la tierra subyacente.

Sea lo que fuere, el déficit en bases solubles (álcalis) que se observa con bastante frecuencia en muchas especies vege-

tales, entre el período de la florescencia y el de la madurez perfecta, debe ser atribuído, a menudo, a la siguiente causa: la del lavado de las hojas y de los órganos en vías de desecación por el agua de lluvia. Una planta, impermeable en estado verde, deja de serlo cuando los tallos y las hojas están marchitos. Según Dehérain, las plantas que se dejan madurar donde están plantadas antes de su cosecha presentan, entre las bases salificables y las bases que corresponderían a la totalidad del nitrógeno, una relación mucho más pequeña que la que se halla en las plantas recolectadas en verde. Las hojas que se desprenden de los árboles en otoño y cubren la tierra experimentan, por las aguas de lluvia en invierno, un incesante lavado. Así restituyen a la tierra la mayor parte de los elementos salinos que le habían quitado. Por otra parte, esta acción disolvente del agua, que elimina fuera del órgano una fracción bastante pequeña del nitrógeno, una porción mucho más considerable del ácido fosfórico y casi la totalidad de la potasa, es favorecida por la acción de los seres microscópicos, agentes de la combustión de la materia orgánica. Ésta, a medida que desaparece, pone al descubierto los elementos minerales en una superficie muy extensa que el agua pluvial puede alcanzar más fácilmente.

Un fenómeno de esta naturaleza ocurre ciertamente cuando las hojas, desecadas al fin de la vegetación, están todavía adheridas a la planta. Pero, la eficacia de este lavado, en cuanto elimina ciertas substancias solubles contenidas en el órgano, es evidentemente menor que en el caso precedente. La cantidad de materias solubles que pueden ser substraídas a la planta por este mecanismo es, por lo demás, difícil de averiguar.

En resumen, es verosímil la creencia de que ciertos elementos minerales, ácidos y básicos (potasa y sosa en particular), cuando se encuentran en exceso en la planta y pueden dañar a su desarrollo, vuelvan poco a poco parcialmente al suelo. Sin embargo, no podríamos admitir, sin que nuevos y precisos experimentos nos hayan ilustrado sobre este punto, la existencia de estas pérdidas enormes de sílice, nitrógeno, a veces de cal y ácido fosfórico, observadas por muchos autores en algunos vegetales, entre la época de la flores-

cencia y la de la madurez: las irregularidades observadas en este concepto escapan actualmente a toda explicación plausible.

Es bien evidente que el aumento *absoluto*, en el cuerpo de la planta, de todos los elementos minerales indispensables hasta el término de la evolución completa—aumento fácil de comprobar en gran número de casos,—no es incompatible con la existencia de las excreciones radicales o foliáceas. Basta admitir que la absorción salina predomina sobre la excreción, cualesquiera que sean las reacciones intermedias que se efectúan en la intimidad de los tejidos.

Para terminar, nunca insistiremos demasiado en el siguiente punto, ya mencionado anteriormente (pág. 118). Una planta que se desarrolla no toma forzosamente el nitrógeno que le es necesario solamente de los nitratos que el suelo contiene. El nitrógeno de las sales amoniacales, aplicadas en forma de abonos o formadas por efecto del juego de ciertas acciones microbianas a expensas del nitrógeno orgánico, puede intervenir, a lo menos en parte, como fuente de nitrógeno asimilable. El mismo nitrógeno orgánico, cuyo estado químico es difícil definir y que se encuentra en todos los suelos sin excepción, es susceptible, según algunos experimentos recientes (pág. 251) de ser absorbido directamente por las raíces de los vegetales. Por otra parte, ya hemos hecho notar que este último modo de nutrición nitrogenada debe ser el de todas las plantas que crecen en las tierras llamadas *ácidas* en que no puede efectuarse la nitrificación.

Por último, el amoníaco atmosférico—tan parsimoniosamente repartido en el aire y cuyo papel parece ser bastante atenuado—interviene tal vez como elemento nutritivo nitrogenado en muchos casos: lo que, por lo demás, estaría de acuerdo con las antiguas teorías relativas a la asimilación del nitrógeno.

Resulta de estas consideraciones que, independientemente de toda excreción salina, el déficit de las bases y por consiguiente el exceso de nitrógeno—que es fácil poner de manifiesto por medio del cálculo de Warington—tienen una explicación racional en el hecho de que el nitrógeno ha podido penetrar probablemente en la planta en las múltiples formas que acabamos de señalar.

III

CAUSAS DE LA ACUMULACIÓN DE LAS MATERIAS MINERALES

Las causas de la acumulación de las materias minerales en el vegetal pueden ser explicadas de una manera bastante satisfactoria a partir de los fenómenos de difusión (pág. 21).

Hace mucho tiempo que Dehérain llamó la atención sobre este punto.

Tomemos un vaso poroso de una pila eléctrica y llenémosle de agua destilada, luego inmerjamos este vaso en otro que contenga una solución salina, por ejemplo de cloruro sódico. Al cabo de algunos días observaremos que cierta cantidad de sal ha penetrado en el vaso poroso, y si esperamos un tiempo suficiente, variable con la naturaleza de la sal empleada, encontraremos que volúmenes iguales de líquido tomados del exterior del vaso poroso y del interior del mismo contendrán la misma cantidad de sal: se ha establecido el equilibrio.

Si ponemos ahora una nueva sal en el vaso exterior, por ejemplo sulfato potásico, éste penetrará a su vez en el vaso poroso hasta que se establezca el equilibrio, como en el caso anterior. Por lo tanto, la presencia de una primera sal (cloruro sódico) en el vaso poroso no impide la entrada en este vaso de una segunda sal (sulfato potásico).

Hagamos ahora el siguiente ensayo. Introduzcamos en el vaso exterior de nuestro aparato una mezcla de dos sales: cloruro sódico y sulfato de cobre, estando lleno el vaso poroso de agua destilada; esperemos algunos días, a fin de que se establezca el equilibrio, y luego pongamos en el vaso poroso agua de barita. El sulfato de cobre contenido en el vaso poroso experimentará un cambio profundo: la barita se unirá con el ácido sulfúrico para formar sulfato bárico insoluble que se precipitará, y el óxido de cobre, unido antes al ácido sulfúrico, se precipitará también, puesto que es insoluble en el agua. En cuanto al cloruro sódico que ha penetrado en el vaso poroso al mismo tiempo que el sulfato de cobre, no será modificado por la adición de la barita, y su concentración primitiva, tal como existía en el momento en que se ha establecido el equilibrio, quedará absolutamente la misma.

Por efecto del cambio ocurrido en el estado del sulfato de cobre, a consecuencia de su precipitación por la barita en el vaso poroso, queda roto el equilibrio: una nueva cantidad de sulfato de cobre del vaso exterior penetrará en el vaso poroso hasta restablecer un nuevo equilibrio.

Si el sulfato de cobre que penetra así se encuentra en presencia de la barita, se precipitará como la primera vez, y penetrará todavía una nueva proporción de sulfato hasta que la causa de la precipitación, es decir, la barita, haya cesado de actuar y esté, por consiguiente, completamente neutralizada.

Podemos deducir, pues, de este experimento una conclusión muy importante respecto de lo que sigue, esto es, que: *la formación de una combinación insoluble es una causa de acumulación de substancia.* En el experimento anterior habríamos podido hacer entrar en el vaso poroso la totalidad del sulfato de cobre contenido en el vaso exterior, con la condición de poner en el vaso poroso una cantidad suficiente de barita, causa de la acumulación y de la insolubilización del sulfato de cobre.

Resulta que, cada vez que se consigue un equilibrio, si por una causa cualquiera se altera este equilibrio, se establece una nueva corriente de substancia.

Es fácil aplicar estas consideraciones teóricas al terreno de la fisiología de las plantas y explicar la acumulación de los elementos minerales indispensables para su existencia. Una consecuencia notable se desprende inmediatamente de lo que acabamos de decir. Las soluciones salinas que penetran en la planta por la raíz son extremadamente diluídas. Y sabemos que se encuentran en los tejidos vegetales cantidades notables, y a veces considerables, de ácido fosfórico y sobre todo de potasa.

Si asemejamos, sin duda de un modo grosero, la pared celular con la pared del vaso de la pila eléctrica, y si admitimos que a través de esta pared las soluciones procedentes del suelo penetran en la célula como penetran en el vaso poroso, comprenderemos cómo se produce la entrada de las substancias salinas en la planta. Por otra parte, si suponemos que, en un grupo de células, existe una causa de insolubilización o de transformación de la substancia salina que acaba de introducirse, comprenderemos que una materia mineral, aun en estado de gran dilución, puede *acumularse* en tal o cual órgano, mientras que otra, no modificada en su naturaleza

cuando ha penetrado en la célula, no se encuentra en ésta más que en cantidad muy escasa y en un estado de división tan grande como en los líquidos del suelo de donde procede.

Acumulación de los fosfatos y de las sales potásicas.—A partir de las consideraciones que preceden, podemos darnos cuenta de la acumulación de los fosfatos en el vegetal. Sabemos que, si una parte del fósforo entra en combinación con ciertos elementos cuaternarios para formar lecitinas y nucleínas, otra parte se combina con la materia nitrogenada en forma especial de fosfatos unidos a los albuminoides, como ocurre en el zumo de la patata (pág. 476). Por lo tanto, en el momento de la formación del tubérculo, durante todo el tiempo que dura su crecimiento y el almacenamiento de los albuminoides, serán atraídos los fosfatos hasta que esté acabada la combinación y conseguida la saturación.

Un mecanismo análogo determina la acumulación de las sales potásicas en la planta. Estas sales penetran normalmente en el vegetal en estado de gran dilución, pero encuentran siempre en su paso ácidos orgánicos (oxálico, cítrico, etc.) que las neutralizan. Una vez roto el equilibrio, sube en el vegetal una nueva cantidad de sales potásicas hasta que la totalidad de los ácidos haya contraído combinación con la potasa.

Debe hacerse aquí una observación relativamente a los depósitos de nitrato potásico, a menudo muy abundantes en ciertas partes de la planta (tallos). El nitrógeno de este nitrato, cuando es utilizado para la producción de los albuminoides, abandona el potasio con el cual estaba combinado. Es, pues, necesario que este metal encuentre una causa de neutralización inmediata y que entre por consiguiente en combinación con un ácido. Debe existir necesariamente una correlación entre la formación de los compuestos nitrogenados y la producción de los ácidos.

Acumulación de las materias salinas en la semilla.—La transformación del azúcar en fécula en la semilla es

una causa de acumulación y de insolubilización de los fosfatos. Vaudin (1895) ha observado que los azúcares, en presencia de los malatos alcalinos, pueden mantener en disolución el fosfato tricálcico (y, probablemente, el fosfato magnésico). Los azúcares, elaborados por los órganos foliáceos, al dirigirse a la semilla arrastran consigo los fosfatos insolubles. Cuando el azúcar se convierte en fécula a medida que avanza la maduración de la semilla, los fosfatos insolubles se depositan. En este momento, los malatos son destruídos casi totalmente, y el ácido málico está reemplazado, muy parcialmente, por el ácido succínico.

Es probable que el fósforo de los fosfatos así insolubilizados se transforma entonces en *fitina* (pág. 340). Esta substancia es un ácido capaz de neutralizar las bases unidas a los fosfatos, así como la potasa unida a los malatos.

La acumulación de los fosfatos y de las sales potásicas en la semilla resulta, pues, de un cambio de estado que proviene de la metamorfosis de los azúcares solubles en fécula insoluble.

Observemos, de paso, que el fosfato tricálcico está mantenido en disolución en la leche de los mamíferos gracias a la presencia de la lactosa y de los citratos alcalinos.

Acumulación de la sílice.—La acumulación de esta substancia reconoce probablemente dos orígenes. Hemos visto, algunas páginas atrás, la solidez con que estaba fijada la sílice en ciertos órganos, ya que la acción de los álcalis diluídos e hirvientes dejaba sin disolver toda o parte de esta substancia en los tejidos. Es posible que la sílice forme, en este caso, combinaciones insolubles con la celulosa, del mismo modo que los fosfatos entran en combinación con la materia nitrogenada en el tubérculo de la patata. Admitiendo esta explicación se comprende por qué una substancia, tan poco soluble como la sílice, puede acumularse en proporciones tan notables en un tejido, mientras la combinación citada no está satisfecha.

Otra causa de la acumulación de la sílice debe buscarse en la manera como se comportan sus disoluciones. La sílice

llega del suelo disuelta en líquidos cargados de gas carbónico. Esta solución se esparce uniformemente en todas las partes del vegetal; pero, la sílice dejaría de ascender si no estuviese sometida a alguna causa de insolubilización que cambiase su naturaleza. Se observa corrientemente que, cuanto más tiempo funciona un órgano como aparato de evaporación, más se carga de sílice: tal es el caso de las hojas. Penetrando en éstas, las soluciones de sílice en los líquidos cargados de gas carbónico experimentan una disociación: se desprende el ácido carbónico y, no estando ya mantenida en disolución, la sílice se deposita.

Acumulación de la cal.—Como la de la sílice, la acumulación de la cal procede de dos causas. Los líquidos del suelo llevan a la planta una solución de bicarbonato cálcico y nitrato cálcico. Una parte de la cal se une a los ácidos vegetales (ácido oxálico principalmente), y de ahí deriva una primera causa de acumulación. Otra parte se deposita en forma de carbonato neutro a consecuencia de la disociación del bicarbonato en los órganos de la planta donde se produce una transpiración activa, en las hojas en primer término. La corteza de los árboles—sobre todo las cortezas viejas—contiene mucho carbonato cálcico.

Acumulación de algunas sales solubles. — Hemos visto (pág. 477) que los tejidos de ciertas plantas marinas *(Fucus)* contenían, después de su incineración, más sulfatos que cloruros, aun cuando estos últimos predominan siempre en el residuo salino que deja el agua del mar. Si algunos sulfatos existen como tales en estas algas, la mayor parte del azufre que se encuentra en ellas debe atribuirse a la facilidad con que sus tejidos reducen los sulfatos con producción de alguna materia compleja sulfurada cuyo azufre reaparece en estado de sulfato en la incineración, según se ha dicho antes. Tal sería la causa de la acumulación de los sulfatos.

El caso del nitrato potásico es especialmente interesante. Según las leyes de la ósmosis, cuando una sal ha penetrado

en el vegetal en proporción tal que la solución interior tenga la misma concentración que la solución exterior, esta sal no puede seguir penetrando. Sin embargo, el movimiento del agua sola no es dificultado; porque, si la planta pierde en cada instante por transpiración cierta cantidad de líquido, éste es reemplazado inmediatamente por una nueva cantidad procedente del suelo: de tal manera, que siempre persiste el equilibrio osmótico.

Sin embargo, Demoussy (1899) ha observado que las plantas pueden quitar a una solución de nitrato potásico más sal que agua; sus experimentos fueron hechos en plantas jóvenes de maíz, alforjón y colza. La concentración de la solución inicial experimenta, pues, una disminución, y los líquidos contenidos en los vegetales son más concentrados que los líquidos exteriores. Se deduce de esto que el nitrato potásico se acumula en la planta como lo haría una substancia que se insolubilizara. Es probable que se trate aquí de un fenómeno análogo al que presenta la acumulación de las substancias sulfuradas antes examinadas. Esta combinación de carácter particular no se efectúa más que *en el vegetal vivo;* los lavados prolongados con agua fría son impotentes para extraer de los tejidos los nitratos que éstos han absorbido. Pero, si, en vez de agua fría, se emplea agua caliente que mata al protoplasma, o si se anestesia la planta con cloroformo, los nitratos anteriormente acumulados salen del vegetal.

A medida que la planta se desarrolla, sus exigencias en agua van siendo cada vez más considerables; entonces toma de la solución más agua que sal.

Si el líquido que baña las raíces de la planta joven contiene a la vez nitrato potásico y cloruro sódico, el número de las moléculas de nitrógeno absorbido es mayor que el de las moléculas de cloro, aun cuando el peso del cloruro sódico sea más elevado que el del nitrato potásico: esto es debido evidentemente a que la planta no utiliza la sal común.

Cuando los nitratos son utilizados para la producción de la materia albuminoide, se comprende que a su desaparición como nitratos debe corresponder una nueva absorción de

los que se encuentran en la solución o que existen normalmente en los líquidos del suelo.

IV

GENERALIDADES SOBRE EL EQUILIBRIO OSMÓTICO EN LAS DIFERENTES PARTES DE LA PLANTA

Acabamos de examinar cómo las materias salinas se acumulan en el vegetal. La consideración del equilibrio osmótico interviene para regular esta absorción de las sales disueltas en el agua del suelo o en las soluciones artificiales.

En general, según Stange (1892), las plantas desarrolladas en las condiciones normales (suelo), o en soluciones artificiales normales, tienen una turgescencia que es equivalente a 0,25 de molécula de nitrato potásico; ésta es la que puede llamarse *turgescencia normal*. Si se añade poco a poco nitrato potásico al líquido anterior, se observa que el poder osmótico de la célula crece, hasta cierto límite, con la concentración. Resulta de esto que las plantas fanerógamas, como los vegetales inferiores, son capaces de adaptarse a concentraciones superiores a las que determinan la turgescencia normal: la presión osmótica se eleva, pues, en las células. Pero, si el medio exterior se vuelve osmóticamente demasiado potente, la célula se plasmoliza, la turgescencia disminuye, la planta se marchita y muere. Inversamente, las plantas que se cultivan en el agua destilada poseen una turgescencia *deprimida*, que baja a 0,15 de molécula de nitrato potásico.

Las causas de la débil presión osmótica en las plantas cultivadas en la obscuridad, o cuya asimilación ha sido suspendida, deben buscarse en la disminución de la absorción y, probablemente, en la dilución del jugo celular resultante del aumento del volumen de la célula ahilada.

Veremos en el capítulo XII cómo se puede determinar de una manera indirecta la presión osmótica en el jugo celular. Pero, en el presente caso, es posible evaluar esta presión del modo siguiente:

Según Pfeffer, una solución de nitrato potásico de 0,1 molécula por litro corresponde a una presión de 3,4 atm. Así, pues, la célula, en el estado de *turgescencia normal* antes definido, soporta una presión interior de 8,5 atm.; ésta desciende a 5,1 atm. en el agua destilada. Cuando la presión alcanza su máximo, sube a 13.6 atm.

Estas cifras no se aplican más que a las células que confinan directamente con la solución salina, es decir, a las de la raíz.

La turgescencia es variable con el estado del desarrollo de la planta. En cuanto a la concentración de las substancias salinas de que se nutren los vegetales, varía con la naturaleza de estas substancias: recordemos una vez más que ciertas mucedíneas pueden desarrollarse en soluciones cargadas de sales que determinarían la muerte inmediata de la mayor parte de los demás vegetales.

Cuando una substancia salina forma parte del contenido celular, he aquí lo que ocurre. ¿Experimenta la sal un cambio cualquiera en su naturaleza (sales potásicas minerales convertidas en sales orgánicas), se vuelve insoluble (sílice, fosfatos cuyo fósforo se combina con los albuminoides), contrae entonces una especie de combinación especial con los tejidos (nitratos)? Entonces el equilibrio osmótico se rompe, y la planta debe reabsorber substancias salinas nuevas hasta el restablecimiento de un nuevo equilibrio, provisionalmente estable.

Este equilibrio, por otra parte, puede ser producido, ya sea por la misma sal, ya sea por otra que tenga el mismo coeficiente isotónico que la primera. El paso de las substancias de una célula a otra célula, en el momento de la migración, está igualmente regulado por las leyes del equilibrio osmótico.

En resumen, se puede concluir, con Rysselberghe (1899), que la célula tiende a asegurarse un exceso de presión osmótica respecto del medio que la baña. Este exceso puede ser obtenido, ya sea por absorción de materias tomadas del medio exterior, ya sea por formación en el interior de la célula de substancias hipertónicas. Hasta parece que la actividad celular debe ser tanto mayor cuanto más grande sea el exceso osmótico de la célula respecto del líquido exterior.

A fin de demostrar el notable papel que desempeña la concentración salina en el desarrollo del vegetal, recordemos el siguiente experimento, debido a Nobbe y Siegert (1863). La mezcla salina artificial utilizada por estos autores era tomada en las proporciones indicadas por la expresión $\frac{1}{2}MgSO^4 + 2Ca(NO^3)^2 + 4KCl$; se le añadía una cantidad constante de fosfato de hierro y de fosfato potásico. Se emplearon siete soluciones: 1.ª, agua destilada sola; 2.ª, 0,5 gr. de la mezcla anterior en 1 litro de agua; 3.ª, 1 gr. en 1 litro; 4.ª, 2 gr. en 1 litro; 5.ª, 3 gr. en 1 litro; 6.ª, 5 gr. en 1 litro; 7.ª, 10 gr. en 1 litro. Las plantas cultivadas fueron la cebada y el alforjón.

El peso máximo de substancia seca obtenido, con la cebada, fué

con las soluciones de 1, 2 y 3 gr. por litro; el rendimiento máximo en semillas fué obtenido con las soluciones de 2 y 3 gr. por litro; el máximo del número de tallos se obtuvo con las soluciones de 3, 4 y 5 gr. por litro; el mayor número de espigas, con las soluciones 0,5, 1 y 2 gr.; el máximo de espigas no maduras, con las soluciones 2 y 3 gr. por litro. Las semillas más pesadas fueron obtenidas con las soluciones de 0,5, 1 y 2 gr. por litro. Las soluciones de 3 y 5 gr. dieron el máximo de semillas. En resumen, las soluciones cuya concentración está comprendida entre 0,5 gr. y 1 gr. por litro son las más apropiadas para el cultivo de la cebada (Nobbe). En cuanto al alforjón, esta planta dió el máximo de substancia seca en contacto con la solución de 5 gr. por litro.

Las explicaciones que acabamos de dar, deducidas de la observación de los fenómenos osmóticos, permiten comprender de una manera satisfactoria las particularidades presentadas por la absorción de la mayoría de las substancia salinas.

CAPÍTULO XI

PAPEL DEL AGUA EN EL VEGETAL

Variaciones de la proporción del agua durante el desarrollo.—Mecanismo de la ascensión y del movimiento del agua en la planta.—Transpiración.—Comparación entre la absorción y la transpiración.—Influencia del calor, de la luz y de la permeabilidad de las membranas en la transpiración.—Exudación.

Desde el principio de nuestros estudios hemos llamado la atención sobre la presencia, en el vegetal, de muy grandes cantidades de agua. El agua es quien determina la turgescencia de las células, es ella el disolvente por excelencia de la mayoría de las sales minerales que se encuentran en el suelo y que luego penetran en la planta.

El agua está en movimiento continuo en los vasos; la transpiración, fenómeno que pronto estudiaremos, hace perder a la planta enormes cantidades de este líquido; pero, en las condiciones normales, el suelo proporciona de nuevo a la planta el agua que ésta pierde de este modo. Si el movimiento del agua se detiene, la vida vegetal queda suspendida; los cambios osmóticos no se efectúan. La importancia de la presencia y de la circulación del agua es, pues, de primer orden.

Antes de estudiar el movimiento del agua en la planta, vamos a ocuparnos por de pronto muy sumariamente en las variaciones de hidratación que experimentan los diferentes órganos en el curso de su evolución.

I

PAPEL DEL AGUA EN EL VEGETAL

Variaciones de la proporción de agua durante el desarrollo.—1.° *Durante la evolución de la semilla.* — Sabe-

mos que las semillas en estado de reposo son muy pobres en agua (pág. 296). Tan pronto como se encuentra en un suelo húmedo, la semilla se hincha y pronto nace de ella la planta joven. Esta, cuyo peso es primero muy pequeño, se nutre al principio a expensas de sus cotiledones, después, cuando sus hojas están bien desarrolladas, a expensas del gas carbónico de la atmósfera. He aquí la proporción de agua del *Phaseolus multiflorus*, separado de sus cotiledones, desde el principio de la germinación hasta el momento en que su peso es igual al de la semilla de que procede:

	gr.	Agua en 100 p. de materia fresca
Peso de 100 semillas secas, sembradas el 12 junio.	141,46	11,63
— 100 plantas secas, 24 de junio	18,67	89,60
— — 26 —	28,38	91,10
— — 28 —	49,58	90,30
— — 30 —	67,77	89,50
— — 2 julio	88,38	90,30
— — 4 —	129,67	88,80
— 7 —	147,84	88,80

La proporción de agua ha aumentado, pues, durante los primeros tiempos del crecimiento: en esta época es poco más o menos fija y representa aproximadamente las nueve décimas partes del peso total del vegetal.

Recordaremos aquí que, cuando una semilla principia su evolución germinativa, absorbe una cantidad de agua próxima a su propio peso.

2.° *Durante la evolución del vegetal.*—He aquí, ahora, la proporción de agua de una planta anual (*Amarantus nanus*) en diferentes momentos de su desarrollo (agua en 100 partes de materia fresca):

	Hojas	Tallos	Raíces	Inflorescencias
29 mayo.	82,8	88,2	82,1	»
30 junio (florescencia).	79,8	88,4	78,9	78,1
7 septiembre . . .	60,0	74,6	65,4	65,9

Citemos, además, los siguientes ejemplos, en los cuales la proporción de agua está referida a 100 partes de órganos frescos:

(*Clavel*, 1910)

	13 junio	28 junio	13 julio	9 agosto	23 agosto
Raíces. . . .	93,14	88,23	84,17	81,19	76,08
Tallos	95,07	90,71	88,83	81,61	73,79
Hojas	91,89	88,00	88,71	73,44	45,50
Flores y frutos .	»	»	87,77	76,90	60,24

(*Cebada*, 1911)

	10 junio	23 junio	7 julio	20 julio
Raíces . . .	67,07	60,07	53,60	55,05
Tallos y hojas .	77,29	68,78	62,78	54,88
Espigas . . .	»	»	55,45	33,20

(*Trigo*, 1898)

	1.° junio	20 junio	11 julio	26 julio
Raíces . . .	82,16	80,66	65,85	73,00
Tallos . . .	88,14	83,00	72,20	68,70
Hojas. . . .	84,07	72,34	64,84	46,70
Espigas . . .	»	»	68,00	64,00

(*Sinapis alba*, 1898)

	22 junio	6 julio	26 julio
Raíces.	85,62	76,50	61,00
Tallos	91,75	84,74	72,00
Hojas	86,00	85,28	78,00
Inflorescencias	»	83,77	72,19

Vegetales arborescentes

(*Castaño del año*, 1905)

	30 mayo	4 julio	11 agosto	25 sepbre.
Raíces. . . .	83,31	66,12	64,23	59,82
Tallos	78,68	69,49	51,69	53,32
Hojas	76,51	71,44	68,82	57,85

(*Nogal*, 1.er año)

	31 julio	15 sepbre.	6 novbre.
Raíces.	75,21	69,54	73,19
Tallos	68,30	58,53	68,43
Hojas	59,54	52,00	64,87

(*Nogal*, 2.° año)

	10 julio	7 octubre
Raíces	72,39	59,17
Tallos. {	63,84 (1)	54,29
. . . .	77,29 (2)	
Hojas.	71,17	67,00

(1) Tallos del año anterior.
(2) Tallos del año.

Así, en una planta anual o vivaz, y el hecho es general por lo demás, hay *deshidratación progresiva* de todas las partes cuando la planta avanza en edad. Las hojas son las que pierden más agua; la proporción de este líquido en el tallo sigue siendo, por el contrario, bastante elevada hasta la desecación final. La diferencia entre el grado de deshidratación de la raíz y el de las hojas es, a veces, bastante pequeña; en ocasiones es, por el contrario, muy notable.

Absorción de los líquidos del suelo por la raíz.—Una vez la radícula ha penetrado en el suelo, nacen raíces laterales. Su contacto íntimo con los elementos de la tierra se establece mediante los *pelos radicales* que erizan la superficie de casi todas las raíces terrestres jóvenes. Estos pelos radicales penetran en las menores anfractuosidades, y los granos más finos de la tierra de labor quedan fuertemente unidos a ellos. Se puede convencer fácilmente de esto arrancando del suelo una planta joven. Alrededor de su raíz se encuentra una verdadera *vaina de tierra* que le queda adherida, a pesar de las repetidas sacudidas a que pueda someterse la planta, y no puede quitarse más que inmergiendo la raíz en agua. Los pelos radicales aparecen entonces como pequeños salientes perpendiculares, poco más o menos, al eje de la raíz. Por estos pelos se efectúa la absorción de los líquidos del suelo: la propia extremidad de la raíz, recubierta de la *caperuza*, no absorbe líquido; no adhiere al suelo y sólo sirve de órgano de penetración.

Las raíces no absorben más que cuando están recubiertas de pelos radicales, es decir, durante un tiempo limitado; otras raíces de nueva formación las reemplazan entonces para asegurar la nutrición de la planta, y estas últimas se desarrollan en general a profundidades cada vez mayores. A veces el sistema radicular se ensancha a una pequeña profundidad, directamente debajo de la superficie del suelo, donde forma una especie de cono cuya base está dirigida hacia arriba.

Los pelos radicales pueden faltar totalmente o parcialmente cuando la planta se desarrolla en una solución nutritiva, aun normal.

Según Sachs, la absorción del agua por los pelos radicales es favorecida o dificultada según que la temperatura del suelo aumente o disminuya. Las raíces de las plantas cultivadas en el agua absorben una cantidad de líquido tanto mayor cuanto más caliente sea. Así, cuando la temperatura del suelo es suficientemente baja, la cantidad de agua absorbida por la planta puede quedar reducida a tal punto que no basta ya para sus necesidades. El desmedro que se observa en ciertos vegetales en invierno es debido a semejante causa: estos vegetales no pueden tomar del suelo bastante agua para compensar la pérdida que sufren por el hecho de la transpiración.

Vamos ahora a ocuparnos en la penetración de los líquidos del suelo en la planta y en los movimientos de este líquido.

Estudiaremos este asunto en el orden siguiente: después de haber enseñado sumariamente cuál es el movimiento general de la masa líquida, trataremos de ver cuál es el mecanismo que determina este movimiento. Demostraremos en seguida que la causa generadora principal de éste estriba en una exhalación de vapor de agua. Esta exhalación o *transpiración* es un fenómeno de carácter fisiológico y físico a la vez.

Circulación de los líquidos en el vegetal.—Esta circulación se efectúa de la siguiente manera. Los líquidos del suelo penetran por ósmosis a través de los pelos absorbentes; avanzan en el parénquima de la raíz que separa estos pelos de los haces leñosos y suben en seguida en los vasos de la madera exclusivamente: tal es el movimiento de la savia llamada *en bruto* o *ascendente*. Cuando los vasos de la madera se vuelven impermeables con la edad, entonces la savia sube por los vasos más jóvenes.

Las *puntuaciones* que existen en los vasos representan adelgazamientos a través de los cuales los líquidos de la savia ascendente pueden salir por difusión a los tejidos de alrededor. También por estas puntuaciones se produce un movimiento inverso: los líquidos que impregnan los tejidos

situados alrededor de los vasos pasan a éstos y modifican la composición de los jugos en ellos contenidos.

Esta savia en bruto *es elaborada en las hojas;* primero se concentra en ellas, por efecto de la eliminación del agua por la influencia de la *transpiración.* El fenómeno clorofiliano viene entonces a modificar profundamente la naturaleza de las substancias minerales que han penetrado en la hoja; sabemos que el nitrógeno nítrico se convierte en nitrógeno albuminoide, que el azufre de los sulfatos entra en combinación para formar una parte del núcleo de estos albuminoides y que el fósforo de los fosfatos experimenta también metamorfosis capaces de hacerle entrar en ciertas moléculas orgánicas. De tal manera, que la savia en bruto, completamente modificada en su composición inicial, servirá desde ahora para la nutrición de todo el vegetal. Esta savia recibe entonces el nombre de *savia elaborada.* Ésta *sube* cuando debe dirigirse al extremo del tallo, o *desciende* si alimenta órganos situados debajo de las hojas, y se dirige así hasta la raíz. La savia elaborada circula por los tubos cribados del líber.

Absorción del agua por la raíz.—Esta absorción es extremadamente enérgica. Si se corta junto al suelo un tallo, sobre todo en primavera, escurre de él una cantidad de líquido que puede ser considerable. Una vejiga, atada a este tallo cortado, no tarda en llenarse de agua; hasta puede estallar. Por último, si se une el tallo con un tubo de vidrio de manera que éste quede bien ajustado, el líquido puede ascender en este tubo hasta una grande altura. Este experimento, ya antiguo, es debido a Hales (1725). La presión en la raíz es, pues, notable; es superior a la de la atmósfera. Los fenómenos de absorción predominan, sobre todo en esta época del año en que los tejidos jóvenes se forman en la raíz y en que no existe todavía la transpiración, puesto que faltan las hojas. La presión de las raíces es tanto más enérgica cuanto más débil es el poder osmótico del suelo y cuanto mayor es el de las soluciones contenidas en los vasos.

La potencia de esta absorción es considerable: se puede

formar concepto de ella del modo siguiente, indicado por Jamin. Se toma un bloque de una materia porosa bien desecada (calcáreo, yeso). Se abre en la masa un agujero cilíndrico en el cual se sujeta con mástic un tubo manométrico cerrado por arriba, lleno de aire y que contiene un índice de mercurio. Luego se inmerge el bloque en el agua: ésta penetra en los poros, empuja el aire del tubo y hace subir el índice de mercurio. La presión así producida puede, al cabo de algunos días, llegar a 3 ó 4 atmósferas.

II

MECANISMO DE LA ASCENSIÓN Y DEL MOVIMIENTO DEL AGUA EN LA PLANTA

Si se corta una rama provista de hojas en las cuales la transpiración es activa, y se inmerge la parte cortada de esta rama en un líquido colorante, éste sube por los vasos del leño: puede comprobarse esto haciendo, al cabo de algunas horas, cortes delgados a diferentes alturas. Cuando se hace el experimento con plantas jóvenes en período germinativo, el líquido coloreado aparece hasta en los nervios de las hojas.

Se puede también fijar, por medio de un buen tapón agujereado, una rama con hojas en una de las ramas de un tubo en U (fig. 13). Este tubo contiene mercurio hasta la mitad de la altura en sus dos ramas. Se pone agua encima del mercurio en la rama en que se encuentra la rama, de manera que el extremo cortado esté bien inmergido en el líquido. Se ve entonces descender el mercurio en la rama libre del tubo en U y subir en la otra a medida que el agua, aspirada por la rama verde y vaporizada en sus hojas, desaparece. La ascensión del mercurio puede ser de 10 a 30 centímetros, y a veces hasta puede ser mayor. Existe, pues, una *aspiración* muy marcada del agua, como si se produjera el vacío en el ápice de la rama verde.

Un experimento, debido a Vesque, demuestra en otra forma la energía de esta aspiración. Se corta debajo de una

capa de agua un estolón de *Hartwegia* (orquídea) en corte muy alargado y bastante delgado para que se puedan ver fácilmente los vasos con el microscopio. Se inmerge el corte en una gota de agua puesta en un portaobjetos y, en esta gota, se introduce un poco de un líquido en el cual se ha puesto en suspensión un precipitado blanco muy fino, como el del oxalato cálcico. Si las hojas del estolón son expuestas al sol, pronto se ve cómo los granos finos del oxalato penetran rápidamente en los vasos. A veces estos granos se acumulan en un vaso en cantidad tal que éste se obstruye, y se ven aparecer, más allá de la parte obturada, burbujas de aire que se desprenden del agua por efecto de la disminución de presión. Si se suprimen las hojas en el momento en que la absorción es más activa, el movimiento del agua cesa. Se deduce de esto que, en los vasos, la presión es inferior a la atmosférica. Pero, durante la noche, cuando la transpiración cesa y la temperatura baja, las burbujas gaseosas pueden redisolverse en el líquido contenido en los vasos.

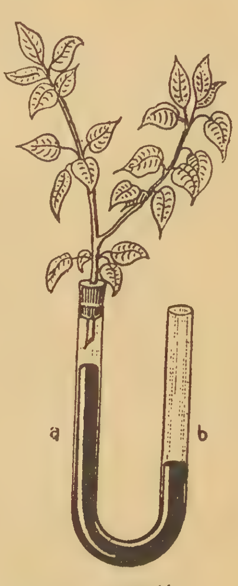


Fig. 13. —Ascensión del agua en la planta

Detengámonos un instante en el fenómeno que presentan los vasos en el momento en que, a causa de una activa transpiración, contienen una serie de burbujas de aire separadas por índices líquidos. Jamin señaló tiempo atrás el curioso experimento siguiente. Si se toma un tubo capilar, de cosa de 1 metro de longitud, en uno de cuyos extremos se hace el vacío, y se acerca al otro extremo un dedo recubierto de una tela mojada, que se apoya y se levanta alternativamente un gran número de veces a intervalos muy próximos, se verá que los índices líquidos, separados por burbujas de aire,

recorren el tubo con una velocidad muy grande al principio, pero que disminuirá poco a poco y acabará por ser nula. El tubo presentará el aspecto de un rosario formado por granos de aire y de agua. Este experimento es conocido con el nombre de *rosarios de Jamin*. Ahora, si se ejerce una presión, aunque sea bastante fuerte, en una de las extremidades del tubo capilar, los primeros índices avanzarán vivamente, los siguientes cambiarán menos de sitio, y los últimos permanecerán inmóviles. En un rosario cuyos granos son bastante finos y bastante numerosos, se pudo conservar una presión de 3 atmósferas durante quince días, sin que hubiese cambio de lugar del líquido. Por lo tanto, estas alternativas de burbujas de aire y de agua en un tubo capilar son un obstáculo invencible para el movimiento del líquido.

Un fenómeno análogo debe ocurrir en el caso en que la transpiración es muy fuerte: experimentando el agua así una gran dificultad en circular en los vasos, la planta se marchita. De todas maneras, el movimiento del agua no se para completamente; los vasos de la planta no tienen la impermeabilidad del tubo de vidrio capilar. El agua puede avanzar en el interior de la pared o entre la pared y las burbujas de aire. Además, si la transpiración es activa, la burbuja de aire más próximo de la superficie del órgano que transpira desaparece por evaporación; la columna total se levanta, aparece una nüeva burbuja de agua, y luego desaparece como la primera.

¿Cómo se establece entonces la continuidad del agua, puesto que cada índice de agua está separado del próximo por un índice de aire? Observemos que, a pesar de la presencia del índice de aire, la pared del vaso está *mojada* por el agua; la ascensión se efectúa a lo largo de los ángulos diedros de esta pared, principalmente donde exista una especie de *filete de agua*.

Se comprende que los fenómenos capilares puedan explicar, a lo menos en ciertos casos, la subida del agua en una planta. Sin embargo, los experimentadores no están muy de acuerdo respecto del siguiente punto: ¿Bastan las fuerzas capilares solas para aprovisionar de agua la copa de un árbol

cualquiera que sea su altura? Según una opinión bastante generalmente admitida, la ascensión capilar no podría llegar más allá de unos cincuenta metros.

Dando la ascensión capilar una explicación insuficiente de la subida de los líquidos en el vegetal, vamos a hacer entrar en juego un fenómeno mucho más general, que nos dará la solución buscada. La causa de esta ascensión debe atribuirse a la *influencia de la presión osmótica*. Hemos explicado ya la continuidad de esta acción. Si dos células, cuyos jugos tienen concentraciones diferentes, se encuentran en contacto una de otra, el paso del agua del jugo menos concentrado al jugo que lo es más establece la igualdad de presión en estas dos células. Se comprende, pues, que todas las células en general deben tomar, directamente o no, a los vasos del tallo cierta cantidad del líquido que éste lleva para concurrir al establecimiento de un estado de equilibrio. Este estado de equilibrio puede no existir en un momento dado de la vegetación y, si existe, puede ser roto, en cada instante, por efecto de los fenómenos de transpiración y de migración de materias.

Según esto, para que los líquidos que llenan las células del vegetal se encuentren en equilibrio, *es necesario que la presión osmótico sea igual en todas partes.*

Supongamos, por un momento, que este equilibrio haya sido alcanzado y que existe *isotonía* en el jugo celular de todos los órganos. Supongamos también que no ocurre cambio de temperatura, ni haya evaporación. El equilibrio antes obtenido persistirá indefinidamente en virtud de las leyes de la ósmosis, y cesará todo movimiento de líquido en el interior del vegetal.

Pero, nunca ocurre esto. La transpiración más o menos enérgica de las hojas ocasiona, a consecuencia de la salida del agua, una concentración mayor de estos jugos en estos órganos. En este instante, el equilibrio osmótico se rompe y el agua, procedente de las células vecinas, penetrará en las células que acaban de perder este líquido. Este movimiento se establece de una capa a otra por intermedio de los vasos hasta la raíz, que está directamente en contacto con el agua del suelo.

Además, por efecto del juego de la función clorofiliana, las células de la hoja almacenan por de pronto azúcares solubles; de donde deriva una segunda causa de aumento de la concentración de los jugos de la hoja.

En realidad, el equilibrio osmótico es roto sin cesar a causa de la extremada variedad de los fenómenos que se efectúan en la célula: formación de materias nuevas, depósito de substancias, desdoblamientos por hidratación, polimerización por pérdida de agua, etc. Pero, este equilibrio se reproduce instantáneamente gracias a la llegada del agua que procede del suelo. Si éste contiene suficiente

cantidad de agua, la turgescencia celular está asegurada, y la planta funciona normalmente. Si el suelo está demasiado seco, la turgescencia cesa porque el jugo de las hojas se concentra a causa de la transpiración y porque no puede recibir bastante líquido para el restablecimiento de la presión osmótica: la planta se marchita, la función de asimilación cesa momentáneamente, lo mismo que la migración de los principios inmediatos almacenados en las hojas.

Esta *teoría osmótica* no está exenta de críticas, a pesar de su simplicidad. Había sido combatida ya por Boehm (1878, 1881). Este autor admitía que el movimiento del agua provocado por la transpiración es una función de la elasticidad de las paredes celulares y de la presión atmosférica. Si las paredes celulares son demasiado rígidas, su elasticidad es reemplazada por la del aire contenido en las células. La savia ascendente filtra de célula en célula bajo la acción de diferencias de presión; en las células superiores la presión es menor que en las células inferiores. Se puede contrariar el libre juego de esta presión de la siguiente manera. Vesque ha demostrado que, si se calienta rápidamente la atmósfera que rodea las hojas de una planta, la absorción del agua por las raíces disminuye; si, por el contrario, se disminuye súbitamente la temperatura de la atmósfera, la absorción aumenta. Esto es una consecuencia necesaria de los cambios de la presión del aire contenido en los vasos.

Otra observación, relativa a la teoría osmótica precedente, debe hacerse aquí. La *impulsión de las raíces* no se hace sentir más que a una pequeña altura en razón de los obstáculos que encuentra la transmisión de presiones (estrechez de los vasos, existencia de paredes transversales a través de las cuales los líquidos filtran fácilmente, presencia de burbujas de aire). Por otra parte, la aspiración de la savia que provoca la transpiración en la parte superior del vegetal no se extiende más allá de cierto límite. Si, pues, estos dos fenómenos (impulsión de las raíces en la parte baja del vegetal, transpiración en la parte alta) actúan de acuerdo para producir la ascensión de los líquidos, sus zonas respectivas de acción pueden, a menudo, estar muy alejadas unas de otras. Por esto están enlazadas unas con otras por una serie de células vivas que, gracias a su poder osmótico, desempeñan unas veces el papel de bomba aspirante, otras el de bomba impelente, y tienden a producir un estado de equilibrio estableciendo una corriente de agua desde el punto en que la presión es mayor hasta el punto en que es más débil (Leclerc du Sablon).

Esta manera de considerar la continuidad de la circulación de los líquidos en el cuerpo del vegetal es, por otra parte, análoga a la que Maquenne expone desde hace quince años en sus lecciones en el Museo de historia natural.

Otra causa de depresión en los vasos. —Hemos visto antes que, si se corta un tallo en el agua, el líquido entra en él, y

se observa en los vasos una alternación de burbujas de aire y gotas de líquido: la presión es, pues, en ellos inferior a la de la atmósfera. Se admite así implícitamente que las paredes de los vasos son aproximadamente impermeables a los gases.

Según Devaux (1902), estas paredes son, en realidad, permeables; el aire penetra a su través lentamente. La depresión debida a la transpiración no puede, pues, mantenerse, y los gases contenidos en los vasos proceden de esta continua penetración. El citado autor ha demostrado que se establecía una depresión en los vasos, *aun en ausencia de toda transpiración apreciable:* es fácil observar esto durante el mes de marzo en los fragmentos de tallos desprovistos de hojas. Además, el análisis del aire contenido en los vasos permite adelantar que la depresión es debida *únicamente a la falta de oxígeno.* El gas carbónico tiene una presión sensiblemente apreciable, superior a la que tiene en el aire ordinario; el nitrógeno tiene una presión igual o poco superior a su presión en el aire. El oxígeno que falta ha sido quitado por la respiración. Esta habría debido producir un volumen igual de gas carbónico: si este último gas no alcanza una presión mayor es porque sale con más facilidad que el oxígeno entra. En efecto, los cambios gaseosos a través de las paredes son *osmóticos,* y el gas carbónico pasa más fácilmente que el oxígeno. La depresión observada es, pues, indirectamente debida a la respiración. Las células vivas intravasculares transforman sin cesar el oxígeno, poco difusible, en gas carbónico muy difusible.

Se puede obtener una prueba directa de la verosimilitud de esta explicación haciendo variar la intensidad de la respiración mediante la temperatura: en este caso, la depresión intravascular varía en el mismo sentido que la intensidad respiratoria. Esta depresión es débil cuando la respiración es débil, notable cuando la respiración también lo es. Esto es lo que se observa en el adjunto cuadro, relativo a un experimento hecho con un sarmiento de vid sin hojas:

		5 a 10°	17 a 18°	35°
Presiones parciales, en centésimas de atmósfera, de la atmósfera interna de los vasos.	CO^2.	1.30	2,66	8,37
	O .	14,50	8,63	0,20
	N .	79,50	80,82	80,65
Presión total		95,30	92,00	89,22

Se deduce de aquí que la depresión del aire contenido en los vasos reconoce una causa distinta del vacío producido por la transpiración; la *depresión de origen respiratorio* actúa sin cesar y siempre en el mismo sentido, lo que no puede hacer la transpiración.

Añadamos, además, que un gas atraviesa tanto más fácilmente una membrana celular cuanto más impregnada esté ésta de agua.

III

TRANSPIRACIÓN

Se da el nombre de transpiración a la exhalación del vapor de agua por la planta. Todos los órganos de la planta que están bañados por la atmósfera transpiran. De la transpiración depende, en gran parte, el movimiento ascensional de la savia y, por consiguiente, la distribución de las substancias que el vegetal toma del suelo. Sin embargo, en las plantas acuáticas, la transpiración no existe. La circulación de las substancias disueltas se produce por simple difusión de una célula a otra. Esta circulación es muy activa, porque estas plantas están muy cargadas de materias salinas. Su superficie de absorción es, por lo demás, muy grande, puesto que se extiende a la totalidad del cuerpo de la planta.

La evaporación del agua por transpiración tiende a rebajar la temperatura del órgano y a protegerlo respecto de un calentamiento local demasiado intenso. Según cálculos de Brown, suponiendo que la transpiración se detuviese, la temperatura de una hoja al sol subiría a razón de más de 12° por minuto.

Sin embargo, en los países cálidos y secos, donde la planta soporta temperaturas muy elevadas, la transpiración es reducida a un mínimo: parece que esta función debería entonces desempeñar un papel especialmente útil para disminuir la temperatura de los órganos que se calientan. Veremos más adelante de qué manera, por el contrario, la planta se defiende de las pérdidas de agua.

La transpiración, como vamos a ver, depende de muchos factores: luz, temperatura, estado higrométrico del aire, permeabilidad de las membranas celulares, etc.; se efectúa aun en una atmósfera saturada de vapor de agua; pero, entonces es a menudo reemplazada por un fenómeno particular, el de la *exudación,* en el cual el agua aparece en estado líquido en ciertos puntos del vegetal.

La transpiración es, pues, un fenómeno de gran importancia, puesto que asegura la turgescencia celular, por una parte, y nutre la planta en principios minerales, por otra. Los movimientos de migración de las substancias elaboradas en las hojas cesarían si se detuviese la transpiración.

¿De qué naturaleza es el fenómeno transpiratorio? Es un fenómeno fisiológico que depende de la vida celular, pero que se puede considerar también, en ciertos aspectos, como un simple fenómeno físico de evaporación.

Comprobación de la transpiración. — Esta comprobación puede hacerse de una manera muy sencilla, indicada hace mucho tiempo por Guettard. Se introduce una hoja larga de gramínea, unida aún a la planta, en un tubo de ensayo teniendo cuidado de mantener la hoja en el tubo mediante un tapón de corcho hendido por el medio. Si se expone el conjunto al sol, pronto se ven aparecer gotas de agua en las paredes del tubo. También se puede, para tener una idea de la intensidad del fenómeno, cortar, por ejemplo, al cabo de una hora, la hoja a raíz del tapón, pesarla, y luego pesar el tubo con el agua que contiene y volverlo a pesar después de haberlo secado. La diferencia indicará el peso de agua correspondiente a un determinado peso de hojas. He aquí los resultados obtenidos por Dehérain aplicando este método:

		Temperatura del aire	Pesos de agua recogida para 100 p. de hojas expuestas 1 hora al sol
22 de abril	Colza	25°	1,3
30 —	—	36°	12,0
8 de junio	Trigo	28°	88,2
2 —	Centeno	36°	100,0

La cantidad de agua transpirada es, pues, muy variable de una planta a otra, siendo iguales las demás circunstancias. Alcanza una cifra muy elevada en las hojas de las gramíneas. En realidad, este modo de operar conduce a la obtención de números demasiado elevados. El sistema *hojas, tubo de vidrio* se comporta como una caldera y su condensador: la hoja se calienta mucho más que las paredes transparentes del vidrio.

Se puede también operar de la siguiente manera para comprobar la transpiración y aun para medirla. Se pone una planta en una maceta y se barniza ésta exteriormente. Se cubre la tierra de la maceta con una lámina metálica que se adapte todo lo posible a la tierra y que deje pasar sólo el tallo de la planta y un tubito destinado a regar la tierra. Así dispuesta, se pone la maceta en un platillo de una balanza y se tara. Se procede, en seguida, a efectuar el experimento exponiendo la planta, ya al sol, ya a la sombra, ya en

la obscuridad. Entonces se pueden seguir las variaciones del peso, volviéndola a poner, al cabo de un tiempo determinado, en el platillo de la balanza; se evaluará luego la superficie total del sistema foliáceo, y se referirá la cantidad de agua perdida a la unidad de superficie: 1 decímetro cuadrado, por ejemplo.

Comparación entre la absorción y la transpiración. — Con frecuencia ocurre en verano, que una planta, cuyas hojas están erectas en el tallo por la mañana, se inclina más o menos hacia el suelo al terminar el día; las hojas se vuelven lacias y pierden su rigidez. En este caso, la llegada del agua procedente del suelo no compensa ya la pérdida ocasionada por la transpiración. Conviene, pues, poder comparar la absorción con la transpiración.

Vesque ha ideado para ello el siguiente aparato (fig. 14). Un tubo en U cuyas dos ramas son de distinto diámetro, teniendo la rama *A* 1 cm. y la rama *B* 1 milímetro de diámetro, sostiene una rama verde provista de hojas bien fijada por medio de un tapón en la extremidad de *A*. Previamente se han llenado de agua las dos ramas del tubo; se evacuan por el tubito *C* las burbujas de aire situadas debajo del tapón, y se procura que el agua llegue en la rama *B* hasta una señal *a* que hay marcada en la misma. El aparato está fijado en una tablilla; no tiene más que de 7 a 8 cm. de altura. Se determina su peso y luego se expone al sol y a la sombra, durante un tiempo determinado. La rama provista de hojas transpira y toma agua del sistema. Se ve entonces que el nivel del líquido desciende por debajo de la señal *a*. Se lleva el aparato otra vez a la balanza, y se averigua entonces, por la diferencia entre el peso primitivo y el actual, la cantidad de agua perdida. Se vuelve a introducir agua en la rama *B* hasta *a* y se pesa el aparato de nuevo. Mediante estas pesadas, se pueden comparar la absorción y la transpiración para una planta dada de peso conocido, sometida a determinadas condiciones de temperatura, estado higrométrico e iluminación.

Sean, en efecto, P el peso primitivo del aparato, P′ su peso después del experimento, P″ su peso después de adición de agua hasta la señal *a*. Si resulta P = P″, se deduce que,

en las circunstancias en que se ha operado, la transpiración es igual a la absorción; por lo tanto, P — P′ representa la cantidad de agua absorbida y transpirada. Si P>P″, es decir, si al fin del experimento, estando nuevamente lleno de agua el tubo *B*, hay, sin embargo, disminución de peso del sistema, es que la transpiración habrá sobrepujado a la absorción: la evaporación P — P′ es mayor que la absorción P′ — P′. Si P < P″, la absorción será mayor que la transpiración: la rama habrá almacenado cierta cantidad de agua.

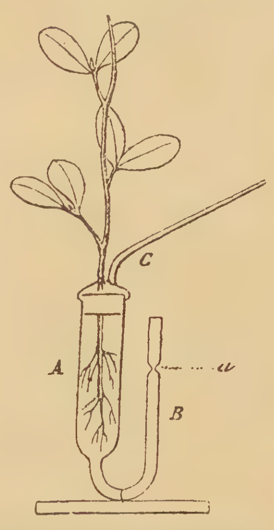


Fig. 14.—Aparato de Vesque para comparar la absorción con la transpiración.

Variaciones de la transpiración. — La elevación de la temperatura, la sequedad de la atmósfera, la acción del viento, favorecen la transpiración; inversamente, si la atmósfera está tranquila y húmeda, si la temperatura es baja, la transpiración será fuertemente atenuada. Siendo iguales las demás circunstancias, la luz ejerce una influencia considerable en la intensidad de la transpiración; ésta puede ser décuple y hasta cien veces mayor para la misma planta transportada de la obscuridad a la luz.

J. Boussingault ha encontrado que las hojas de topinambur perdían, por hora y por metro cuadrado de superficie, las siguientes cantidades de agua; al sol 65 gr., a la sombra 8 gr., en la obscuridad 3 gramos. Un decímetro cuadrado de hojas de vid perdió: al sol 0,3554 gr., a la sombra 0,1119 gr., en la obscuridad 0,0052 gr. Estos tres últimos números están entre sí en las siguientes relaciones: 100 : 31 : 1,4. Volveremos más adelante a este punto especial. La intensidad de la

transpiración varía igualmente con la proporción de agua contenida en la hoja; esta proporción no es la misma en las diferentes horas del día.

La *edad de la hoja* tiene una gran importancia: las hojas jóvenes transpiran, generalmente, a igualdad de superficie, mucho más que las hojas viejas. He aquí, respecto de este punto, algunas cifras debidas a Haberlandt:

		Evaporación por día por 100 cm.² gr.	Evaporación por día por toda la planta gr.
Trigo	1.er período	5,1	5,7
	2.º —	2,8	12,0
	3.er —	2,6	18,4
Centeno	1.er período	3,7	4,3
	2.º —	2,6	10,8
	3.er —	2,1	13,0

Dehérain ha obtenido los siguientes resultados operando de una manera más racional. Introduce en tubos provistos de tapones hendidos hojas tomadas a diferentes alturas del tallo de una misma planta y expuestas igualmente a la luz solar:

		Peso de água por 100 de hojas
Centeno 21°.	Hojas de arriba	99
	— del medio	98
	— de abajo	76
Centeno 36°.	Hojas de arriba	97
	— del medio	78
	— de abajo	71

Resulta de los experimentos debidos a Vesque y a von Höhnel (1878) que, si las hojas más jóvenes transpiran más activamente, esta actividad disminuye por de pronto cuando la edad de la hoja aumenta; pero, aumenta luego y presenta un segundo máximo cuando la hoja está completamente desarrollada. Este segundo máximo es menos elevado que el primero; la intensidad transpiratoria desciende posteriormente hasta el fin de la vegetación. Estas particularidades se deben a que, en la hoja joven, la cutícula es muy delgada y muy permeable; luego se vuelve más gruesa, y su permeabilidad

disminuye hasta llegar a ser casi nula. En razón de esta disminución gradual de la permeabilidad, este primer mínimo persistiría si no se desarrollasen paulatinamente los estomas, cuyo papel es bastante pequeño en la hoja joven. La transpiración por los estomas aumenta sin cesar a partir de este momento; alcanza su máximo cuando la hoja está completamente desarrollada.

Así, existe un primer máximo debido a la transpiración cuticular en la hoja muy joven, luego un primer mínimo correspondiente a la época en que la cutícula, engruesada, transpira poco, y en que los estomas, aun poco desarrollados, transpiran débilmente. Pronto éstos son los únicos en desempeñar un papel activo en la vegetación, de donde procede un segundo máximo, menos acentuado que el primero. Finalmente, la transpiración decrece con los progresos de la edad.

La cutícula no desempeña, pues, un papel activo en la transpiración más que cuando es muy delgada; los estomas son las vías ordinarias de la salida del agua. Por el *ostíolo* de los estomas es por donde se efectúa esta salida, y éstos se abren por efecto del aumento de la turgescencia. Cuando la turgescencia disminuye durante la noche, porque el movimiento del agua se retarda en la planta, los estomas se cierran más o menos completamente por aproximarse entre sí las paredes del ostíolo.

Según Iljin (1913), la apertura y el cierre de los estomas están regulados por las transformaciones que, en la planta, dependen del trabajo de las enzimas. Estas, según su naturaleza y según los casos, solubilizan o insolubilizan la fécula. El resultado de este trabajo se manifiesta en una modificación de la presión osmótica en las células, modificación que actúa sobre la turgescencia de las mismas.

Algunos autores, especialmente Leclerc du Sablon, opinan que la transpiración es, para el vegetal, un *mal inevitable* y que no es necesaria para el ascenso de las substancias salinas. La penetración de éstas depende de reacciones que se efectúan en el interior de la célula: cuando una sal sufre en ella una precipitación, la reemplaza una nueva cantidad de sal (pág. 495); pero, no es indispensable que el agua penetre al mismo tiempo. La transpiración puede. pues, ser

suspendida sin que las sales cesen de ascender en el vegetal: el fenómeno transpiratorio produciría solamente una aceleración de su velocidad de absorción. Si los estomas dan paso a los gases y al vapor de agua, es porque la planta no puede oponerse a la pérdida de ésta, pérdida contra la cual sin embargo se defiende. En efecto, los vegetales adaptados a un medio seco, provistos de estomas para el paso de los gases, se esfuerzan en retener el agua que han tomado del suelo. Leclerc du Sablon cree que, si los estomas fuesen órganos esencialmente destinados a la transpiración, su supresión parecería ser el mejor medio de defensa de estas plantas contra la sequedad. Pues bien, el vapor de agua solamente es *detenido* en cuanto es posible. En la adelfa, por ejemplo, planta adaptada a los climas secos, los estomas están agrupados en una especie de repliegues de la epidermis que forman cavidades o criptas que se abren al exterior en una estrecha abertura. Cuando los gases, procedentes de la asimilación clorofiliana o de la respiración, se desprenden, pasan de los meatos a la cavidad de la cripta por la abertura de los estomas, y de la cavidad al exterior por la abertura de la cripta. El aire contenido en ésta se enriquece rápidamente en vapor de agua. Los estomas, en vez de abrirse en una atmósfera seca, se abren en una atmósfera húmeda: lo cual retarda el desprendimiento de vapor. Las plantas, que están obligadas a poseer estomas para el paso de los gases, no dejan salir por estos orificios, a lo menos en un medio seco, más que la menor cantidad posible de vapor. La función útil a la planta no sería, pues, el desprendimiento del vapor de agua, sino su retención.

Los *depósitos de agua* que se encuentran en una parte del parénquima de muchos vegetales de los países cálidos están encargados de suministrarles el agua que llega a faltarles durante una prolongada sequía.

En las mismas condiciones de temperatura y de estado higrométrico, la transpiración es mayor generalmente en el envés de una hoja que en el haz, a causa de que de ordinario existen más estomas en el haz de las hojas. Se puede también poner de manifiesto esta diferencia de intensidad transpiratoria de la siguiente manera. En una solución al 5 por 100 de cloruro de cobalto se inmerge una hoja de papel de filtro que luego se deseca en una estufa. Se aplica un trozo de este papel azul encima de cada una de las caras de una hoja, y se pone el conjunto entre dos láminas de vidrio. La cara de la hoja que tiene más estomas enrojece rápidamente el trozo de papel que está en contacto con ella; el otro trozo no se vuelve rojo más que al cabo de un tiempo más o menos largo. Sabido es que el cloruro de cobalto anhidro es azul, y que su enrojecimiento indica una absorción de agua.

Cuando los jugos vegetales contienen grandes proporciones de materias disueltas, la transpiración es amortiguada: esto se debe a

que, para una temperatura determinada, la tensión del vapor de agua emitida por una solución es menor que la del agua pura.

La transpiración de las plantas carnosas es retardada por efecto de la presencia de ácidos orgánicos en las crasuláceas y en las mesembriantemeas; de ácidos y gomas en las cactáceas (Aubert). Ya llamamos la atención sobre este punto a propósito de la existencia de ácidos en los vegetales (pág. 422).

IV

INFLUENCIA ESPECIAL DEL CALOR Y DE LA LUZ EN LA TRANSPIRACIÓN

Es indispensable volver a tratar con algunos pormenores de la importancia de estos dos factores, y de los resultados contradictorios y de difícil interpretación que a menudo han sido publicados sobre este tema.

Hemos dicho antes que la acción de la luz tenía una influencia considerable sobre la transpiración. Entre la transpiración de una planta en la obscuridad y la de la misma planta a la luz, la relación puede ser de 1 a 100.

Si se toma una planta ahilada en la obscuridad absoluta y se expone en seguida a la luz, su transpiración apenas aumenta: sólo pasa a ser doble o triple. Lo mismo ocurriría a una planta que nunca contuviese clorofila. La influencia de la luz respecto de la transpiración es, pues, real en todas las plantas, pero se ejerce con una energía extremadamente mayor en las que tienen clorofila (véanse más adelante las restricciones que deben hacerse sobre este particular relativamente a la permeabilidad de las membranas celulares). Dehérain atribuye este aumento de la intensidad del fenómeno transpiratorio a la *calidad luminosa* de los rayos solares, independientemente del calentamiento que se produce por efecto de la radiación luminosa, absorbida por la clorofila, que se convierte en calor.

He aquí algunos experimentos debidos al autor citado. Si se opera con hojas contenidas en tubos de vidrio, pero adheridas toda-

vía a la planta, es decir, en una atmósfera forzosamente *saturada de vapor de agua*, se encuentran las siguientes cifras al cabo de tiempos iguales:

		Temperatura	Peso de agua p. 100 de hojas
Trigo.	Sol.	28°	88,2
	Luz difusa	22°	17,7
	Obscuridad	22°	1,1
Cebada.	Sol	19°	74,0
	Luz difusa	16°	18,0
	Obscuridad	16°	2,0

Para operar a la misma temperatura, se puede poner el tubo en que está la hoja dentro de otro tubo por donde circula una corriente de agua: se obtienen números del mismo orden de magnitud que los precedentes Introduciendo agua a 0° en el tubo exterior, y exponiendo el conjunto al sol, se encuentra todavía una transpiración muy enérgica.

En efecto, las hojas tienen, respecto del calor obscuro, un poder absorbente muy notable, análogo al del negro de humo. Según Maquenne (1880), las hojas absorben una considerable proporción del calor emitido por la lámpara de Bourbouze (hilo de platino calentado a la incandescencia). Esta absorción es debida a la existencia, en su parénquima, de materias tales como la clorofila y el agua, y a las difusiones que se efectúan interiormente en la superficie de cada una de las células que constituyen la hoja. La parte más refrangible del espectro no ejerce más que una débil acción sobre la transpiración; no ocurre lo mismo con la parte menos refrangible: ésta determina una fuerte transpiración. Según Dehérain, si se interpone en este último caso una cubeta llena de agua que intercepte la mayor parte de las radiaciones caloríficas, siendo el agua muy atérmana, se debilita la transpiración; mientras que, si se substituye el agua por un líquido diatérmano, que deja pasar los rayos obscuros, la transpiración es muy activa. Se empleará, como líquido diatérmano, una solución de yodo en cloroformo. Este líquido, de color violeta muy obscuro, es absolutamente opaco y no se deja atravesar por los rayos luminosos.

Dehérain admite, pues, la existencia de una influencia calorífica, según la reseña de los hechos precedentes; pero, como pronto veremos, la influencia luminosa cuya acción considera él como preponderante, en realidad no interviene más que como causa secundaria.

Cada radiación posee una influencia propia, que Dehérain (1869) pone de manifiesto introduciendo en el tubo exterior que rodea la hoja soluciones diversamente coloreadas, pero de transparencia aproximadamente igual. He aquí los resultados que se obtienen al cabo de tiempos iguales:

Color de la disolución	Peso de agua p. 100 de hojas
Amarillo anaranjado (solución de percloruro de hierro).	60,6
Rojo (carmín)	51,0
Azul (sulfato de cobre amoniacal)	40,0
Verde (cloruro cúprico)	33,0

Parece resultar de este experimento que los rayos anaranjados son los más eficaces para determinar la transpiración: son igualmente los más activos respecto de la descomposición del gas carbónico. Las radiaciones que determinan la transpiración son, pues, las que absorben de preferencia la clorofila. Estas radiaciones ejercen en la hoja una doble acción, puesto que descomponen el gas carbónico al mismo tiempo que evaporan el agua; efectúan, por consiguiente, ya un trabajo químico, ya un trabajo calorífico.

Esta relación entre los rayos amarilloanaranjados, la descomposición del ácido carbónico y la transpiración ha inducido a Van Tieghem (1886) a formular la proposición siguiente. En las partes verdes de las plantas se realiza una transpiración *supernumeraria* que vendría a sumarse a la transpiración normal de que gozan a la vez las plantas con clorofila y las que no la contienen. La clorofila tendría dos funciones distintas, según resulta de las investigaciones de Dehérain: la porción de calor procedente de la absorción de ciertas radiaciones, no utilizada en la descomposición del gas carbónico, sería empleada en una transpiración especial que Van Tieghem propone llamar *clorovaporización*.

Se ha creído demostrar la existencia de la relación que acabamos de señalar, entre los fenómenos clorofiliano y transpiratorio, de la siguiente manera. Exagerando uno de los dos, el otro debe debilitarse, y recíprocamente. Si se expone sucesivamente a la luz solar una hoja que ha estado primero en el aire ordinario y después en una atmósfera enriquecida artificialmente en gas carbónico (10 por 100), la transpiración debe ser menor en el segundo caso, porque la mayor parte de las radiaciones serán sobre todo empleadas en la descomposición del ácido carbónico con que la atmósfera ha sido enriquecida; no quedará más que una fracción bastante pequeña disponible para la transpiración. Esto es, en efecto, lo que permite comprobar la experimentación. Inversamente, si se suspende la asimilación por medio de un

anestésico (pág. 68), las radiaciones serán empleadas de una manera exclusiva en favorecer la transpiración: esto está de acuerdo con los hechos que han sido observados (véase más adelante).

Pero, estos dos últimos experimentos están sujetos a críticas y su interpretación debe ser modificada en el siguiente sentido. En efecto, se ha reconocido que, por una parte, un exceso de gas carbónico en contacto con una hoja dificultaba la transpiración: por otra parte, suprimiendo la acción de los anestésicos la asimilación, resulta que el órgano en que se opera es un órgano momentáneamente muerto, que ya no transpira agua, en el sentido fisiológico de la palabra, sino que su superficie deja simplemente *evaporar* este líquido. La pérdida de agua por evaporación, *fenómeno puramente físico*, es siempre superior, a igualdad de superficie, a la pérdida de agua por transpiración. Es que, en efecto, el protoplasma vivo retiene con gran energía la mayor parte del agua que contiene, lo que no hace el protoplasma muerto. Una hoja pierde mucha menos agua que una superficie igual de este mismo líquido expuesto en un vaso abierto o que la superficie de un papel mojado, suponiendo que las condiciones exteriores sean idénticas. Sin embargo, cuando la hoja está separada de la planta, su transpiración pasa a ser mucho más enérgica que la de una hoja de igual superficie adherida aún a la planta.

Otra causa de la escasez de la transpiración en una planta situada en una atmósfera rica en gas carbónico debe ser buscada en la naturaleza misma del fenómeno clorofiliano. La asimilación clorofiliana es un fenómeno endotérmico: el descenso de la temperatura de la hoja será tanto mayor cuanto más enérgica sea la asimilación, y la vaporización del agua tanto menor cuanto menos elevada sea la temperatura de la hoja.

Sin embargo, no debería exagerarse la influencia que ejerce la presencia de un exceso de gas carbónico sobre la disminución de la transpiración. El valor del efecto producido es probablemente bastante escaso, puesto que la función asimiladora no consume, en realidad, más que una fracción

mínima de la energía luminosa (pág. 108). Resulta de esto que la mayor parte de esta energía está siempre disponible respecto del fenómeno transpiratorio. Un aumento de la asimilación, en presencia de una mayor proporción de gas carbónico, no reduciría la transpiración más que en una medida insignificante.

En realidad, la transpiración no está únicamente subordinada a las cualidades de la radiación luminosa; otros factores entran en juego, según vamos a ver.

Si nos fijamos en los experimentos de Dehérain, antes indicados, sobre la influencia de las luces coloreadas artificiales, veremos que no hay, en suma, una gran diferencia, desde el punto de vista transpiratorio, entre las luces amarilloanaranjada, roja y azul. La luz que llega a la clorofila se transforma en calor y los tejidos se calientan. Según Wiesner (1876), son los rayos *que corresponden a las bandas de absorción de la clorofila y no los rayos más luminosos* los que activan la transpiración. Los rayos caloríficos obscuros actúan sobre la transpiración, si bien que con menor intensidad que los rayos luminosos propiamente dichos. Los rayos químicos o ultravioletas tienen una acción sensiblemente nula. La luz no actúa, pues, para provocar la transpiración más que *porque se transformaría en calor*. Tal es la fórmula adoptada por Wiesner, cuyos experimentos fueron hechos, a la inversa de los de Dehérain, *en una atmósfera no saturada de vapor de agua* y, por consiguiente, en condiciones más próximas a la evolución normal de los vegetales.

La transpiración es, pues, provocada *por el conjunto de las radiaciones coloreadas*. La función clorofiliana depende principalmente de la porción del espectro situada entre las rayas B y C; la transpiración se ejerce en casi toda la extensión de las radiaciones visibles, desde el anaranjado hasta el principio del violeta.

Tal es la manera como debe considerarse la naturaleza del fenómeno transpiratorio y de las causas que lo determinan.

Cuando la planta se encuentra en un espacio saturado de

vapor de agua, como en los experimentos de Dehérain, se debería observar el paro de la transpiración; pero, esto supondría que había equilibrio de temperatura entre la planta, la atmósfera en que vegeta y las paredes del vaso que circunscriben esta atmósfera. Semejantes condiciones se encuentran aproximadamente realizadas en la obscuridad y a baja temperatura, circunstancias en que el desprendimiento de calor debido a la respiración puede ser prácticamente considerado como nulo. Pero, si la planta está expuesta directamente a los rayos solares, la clorofila, cuyo poder absorbente es considerable, se calienta, y la transpiración comienza; continúa de una manera casi indefinida, porque la temperatura de las paredes de la campana en que está contenida es más baja que la de la planta: hay, pues, *destilación* del agua de la hoja más caliente hacia la pared que está más fría.

Además, el calentamiento de la hoja activa el fenómeno respiratorio, que es exotérmico: otra causa que mantiene una diferencia positiva de temperatura entre la planta y la pared. Tal es el significado de los experimentos de Dehérain.

En resumen, si se analiza superficialmente el fenómeno de la transpiración, parece que las radiaciones del espectro solar, en tanto que emiten luz, desempeñan un papel preponderante. Sin embargo, una planta ahilada, o totalmente desprovista de clorofila, no transpira a la luz más que una cantidad de agua apenas superior a la que deja escapar en la obscuridad. En presencia de la energía incomparablemente mayor con que una planta verde, observada sucesivamente en la obscuridad y a la luz, emite en este último caso vapor de agua en la atmósfera, se concibe que muchos experimentadores se hayan visto tentados a atribuir a la clorofila la intensidad de los efectos observados y a admitir una relación entre la función transpiratoria y la función de asimilación. Si la primera experimenta, por una causa cualquiera, una debilitación, la segunda aumenta y recíprocamente. Dicho en otros términos, una fuente única de energía, sería capaz, según las circunstancias, de exaltar uno de los dos fenómenos en detrimento del otro.

Hemos visto antes que no debía ser ésta la interpretación rigurosa de los hechos observados.

En realidad, la expresión de *clorovaporización* sólo puede ser conservada en el sentido que atribuye a la clorofila el papel de *absorbente* de los rayos luminosos con transformación de la luz en calor.

Un experimento bien sencillo viene a apoyar esta opinión. Se toman dos mechas de algodón cuya base está inmergida en el agua, y se recubren estas dos mechas en su parte superior de un semicilindro de latón, embadurnado de negro de humo en el primer caso y simplemente pulimentado en el segundo. Se introducen las dos mechas así dispuestas en dos tubos de ensayo, y se exponen los dos sistemas al sol. La cara interna del tubo que contiene la mecha del cilindro ennegrecido se cubrirá rápidamente de un rocío intenso: el otro estará en retraso respecto del primero. Este experimento no pone en juego más que un cuerpo absorbente de las radiaciones caloríficas, el negro de humo. Es exactamente esto lo que ocurre en el caso de la clorofila.

Ahora hay motivo para hacer intervenir, en el estudio de la esencia del fenómeno respiratorio, un factor nuevo: la *permeabilidad de las membranas.*

Permeabilidad de las membranas celulares a la luz y en la obscuridad.—Leclerc du Sablon (1913) concede una importancia especial a la permeabilidad de las membranas celulares en el fenómeno de la transpiración. Estas membranas serían, según Lepeschkin (1904), más permeables a la luz que en la obscuridad.

La célula vegetal está limitada por dos membranas concéntricas: al exterior, por una membrana rígida, ordinariamente celulósica, que puede estar recubierta, en el caso de las células periféricas, de una capa de cutina; al interior, por una membrana protoplasmática que limita el protoplasma y forma cuerpo con él. La evaporación del agua se produce en la superficie externa de la membrana de celulosa: se comprende, pues, que la rapidez del desprendimiento del vapor de agua depende del grado de permeabilidad de las membranas que esta agua debe atravesar.

La luz solar aumenta la permeabilidad de las membranas mucho más rápidamente que el calor obscuro: por esto, a igual temperatura, la transpiración es más pronunciada al sol que a la luz difusa o en la obscuridad: la luz solar hace más permeables, no solamente las membranas protoplasmáticas, sino también las membranas de celulosa no cutinizadas.

Además, todas las circunstancias que tienden a contraer el protoplasma (plasmolisis) retardan la transpiración. Pero, la plasmolisis no es el único fenómeno capaz de modificar la permeabilidad de las membranas: la acción de los anestésicos disminuye igualmente la intensidad transpiratoria tanto a la luz como en la obscuridad.

Sin embargo, *si el efecto se prolonga, la transpiración aumenta* y puede, en ciertos casos, determinar un desprendimiento de vapor mayor que en el aire puro. Bajo la influencia del anestésico el protoplasma primero se contrae y su permeabilidad disminuye; a este período de resistencia sigue un estado patológico: el protoplasma se relaja y el vapor de agua se desprende.

Transpiración en las hojas verdes y en las hojas sin clorofila.—El paso de la luz solar difusa a la luz solar directa eleva la transpiración poco más o menos en la misma relación, en las dos clases de hojas. El paso de la obscuridad a la luz difusa aumenta la transpiración, ya en la misma proporción en las dos clases de hojas, ya en una proporción mayor respecto de las hojas verdes que respecto de las blancas. Si la temperatura sube en la obscuridad, se produce, siendo iguales las demás circunstancias, un aumento de la transpiración mayor, en general, en las hojas verdes que en las otras. La ausencia de la clorofila en una hoja normalmente verde *(Pelargonium zonale)* no debe, pues, según Leclerc du Sablon, llevar consigo cambios importantes en la marcha de la transpiración considerada en sus relaciones con la luz.

Sin embargo, muchos autores, y Wiesner en particular, han demostrado que la luz solar eleva la transpiración, de una manera mucho más considerable en las plantas verdes que en las plantas ahiladas. Pero, debe observarse que, en estas últimas, la membrana no posee, respecto de los agentes exteriores, la misma sensibilidad que la membrana de los órganos verdes.

Las hojas sin clorofila, estudiadas por Leclerc du Sablon, no se encuentran en este caso. Se han desarrollado a la luz: se podría decir que *son hojas verdes en que la clorofila no se ha formado* (hojas manchadas o normalmente blancas). Estas hojas han conservado, pues, las propiedades ordinarias de las hojas verdes y, en particular, la sensibilidad de las membranas protoplásmicas a la luz.

Esta sensibilidad de la hoja verde bajo la influencia de la luz es debida a que en la célula verde se efectúan entonces intensos cambios gaseosos: es, pues, necesario que las membranas se vuelvan permeables cuando se realiza la asimilación del carbono.

En las plantas carnosas la transpiración es débil, y la luz actúa poco sobre esta función. En efecto, las membranas protoplásmicas de las células parenquimatosas que están en la periferia de los tallos o de las hojas carnosas tienen una muy escasa permeabilidad.

Cantidades de agua transpiradas en las condiciones normales de la vegetación.—Resulta de numerosos experimentos que la cantidad de agua transpirada, necesaria para la elaboración de 1 gr. de materia seca, oscila por término medio, alrededor de 250 a 300 grs. He aquí algunas

cifras debidas a Haberlandt (1876) y a Hellriegel (1884) relativas a la cantidad de agua necesaria para la producción de 1 Kg. de materia seca:

	Agua transpirada.		Agua transpirada.
Trigo.	234 Kg.	Haba.	283 Kg.
Centeno	166 »	Guisante. . . .	273 »
Cebada	247 »	Trébol.	310 »
Centeno	455 »	Alforjón. . . .	363 »

La cantidad de agua evaporada por los árboles de hojas perennes es menor que la que transpiran los árboles de hojas caducas.

Influencia de la riqueza nutritiva del suelo en la transpiración. — Para elaborar 1 gramo de materia seca la planta emplea tanta menos agua cuanto más enérgico y más rápido es su crecimiento. Inversamente, cada vez que la asimilación es dificultada o que la duración de la vegetación se alarga de un modo desmesurado, la transpiración aumenta.

Los tres principales factores que pueden actuar sobre la transpiración son: los alimentos minerales, la luz y el calor.

Hellriegel pone en cierto número de vasos 4 Kg. de arena cuarzosa que riega con una solución nutritiva en la cual sólo varía la cantidad de nitrógeno dado en forma de nitrato cálcico. Se mantiene constante la humedad de la arena. He aquí los resultados obtenidos con la cebada al cabo de ochenta y dos días de vegetación:

	Nitrato cálcico en cada vaso	Materia seca producida	Cantidad de agua total transpirada	Cantidad de agua transpirada por 1 gr. de materia seca producida
	gr.	gr.	gr.	gr.
I. . .	1,640	25,504	7 451	292
II. . .	1,312	23,026	6 957	302
III. . .	0,984	18,288	6 317	345
IV. . .	0,656	13,935	4 839	347
V. . .	0,328	8,479	3 386	399
VI. . .	0,000	1,103	956	867

Dehérain, que había obtenido resultados del mismo orden con diversos vegetales, veía en ellos la consecuencia de un hecho de observación corriente: es decir, que una planta alimentada insuficientemente desarrolla proporcionalmente más raíces que una planta de la misma especie que dispone de abundantes materias nutritivas.

Maquenne (*Cours du Muséum*, 1903) da la siguiente explicación de este fenómeno. La cantidad de agua evaporada E depende sobre todo de la superficie del vegetal; la evaporación es, pues, aproximadamente proporcional al cuadrado de las dimensiones lineales:

$$E = Al^2.$$

Por otra parte, el peso P de la planta es proporcional a su volumen, es decir, al cubo de las dimensiones lineales:

$$P = Bl^3,$$

de donde se deduce : $E = A\sqrt[3]{\left(\frac{P}{B}\right)^2} = KP^{\frac{2}{3}}.$

La evaporación crece, pues, menos rápidamente que el peso de la materia seca elaborada.

Esta fórmula se comprueba bien en cierto número de casos, especialmente respecto de los experimentos de Hellriegel.

La falta de luz, siendo iguales las demás circunstancias, aumenta la transpiración: cuanto más insuficiente es la iluminación tanto mayor es la cantidad de agua transpirada para producir 1 gr de materia seca.

La cantidad de agua transpirada por gramo de materia seca producida es tanto mayor cuanto más baja es la temperatura.

Influencia, en la transpiración, de la presencia de materias orgánicas absorbibles por la planta.—En sus investigaciones sobre la nutrición del maíz en solución mineral aséptica. Mazé (1913) demuestra que, para elaborar un peso dado de materia vegetal, el volumen de agua evaporada por esta planta es constante, cualesquiera que sean la concentración del líquido nutritivo, el estado químico de los alimentos minerales que lo componen y el estado de desarrollo del vegetal. Cuando se alimenta al maíz con soluciones azucaradas, completas o no, la cantidad de agua evaporada es inferior a la que suministra el mismo vegetal cuando no dispone más que de los solos alimentos minerales. Este fenómeno

debe ser atribuído a la asimilación del azúcar por la planta, descontando del peso de la materia seca de ésta el del azúcar simplemente almacenado, pero no asimilado. El autor deduce de esto que, reduciendo el trabajo químico de la planta, se reduce al mismo tiempo la cantidad de agua que le es necesaria, y que esta cantidad de agua está regulada por la suma de las transformaciones químicas que ella realiza. Pero, es conveniente observar aquí que, en semejantes experimentos, las plantas se encuentran en condiciones que difieren esencialmente de las normales. La concentración de las soluciones de sacarosa empleadas es infinitamente mayor que la de los líquidos orgánicos y minerales que contiene el suelo: la alimentación de la planta en agua se halla, pues, reducida, de donde deriva una disminución de la transpiración. Los ensayos siguientes escapan a esta crítica.

En efecto, la planta a la que se dan materias orgánicas muy condensadas (fécula, peptona, humus) realiza una economía de agua: estas materias son, pues, bien asimiladas (pág. 115). Resulta de ello que los suelos fértiles, en cuya composición entra cierta cantidad de humus, deben economizar el agua que reciben.

Recordemos que Dehérain había llegado a las mismas conclusiones hace ya mucho tiempo (1891), y había demostrado que, en muchas plantas, la evaporación es menor cuando disponen de cierta proporción de humus que cuando su alimentación es exclusivamente mineral.

V

EXUDACIÓN

Cuando la atmósfera está saturada de vapor de agua y ya no interviene la radiación solar, las hojas dejan salir gotas de agua que exudan por los ostíolos de los estomas acuíferos o por rasgaduras normales o accidentales de la hoja o del tallo. La exudación se observa después de ponerse el sol, especialmente en las hojas de las gramíneas. Es debida al cese de la transpiración o, a lo menos, a su atenuación: la raíz continúa absorbiendo líquidos del suelo y se produce entonces un exceso de presión tal que el líquido sale tal como es de la hoja.

Según muchos autores, esta agua contendría substancias salinas, y la planta se libraría, por este mecanismo, de las materias capaces de perjudicar su desarrollo (pág. 490).

Otros experimentadores, por el contrario, han encontrado que esta agua de exudación era agua casi pura.

Las *secreciones nectaríferas* deben atribuirse a un fenómeno de exudación; lo mismo ocurre con los depósitos de *mielada* (pág. 163) que forman las hojas de tilo, arce, roble, etc. Estas secreciones y estos depósitos contienen materias azucaradas, a veces esencias; su reacción es frecuentemente ácida.

CAPÍTULO XII

DESARROLLO GENERAL DE LOS VEGETALES. FENÓMENOS DE CRECIMIENTO

Marcha general de la vegetación en una planta anual.—Fenómenos de crecimiento y de evolución en las plantas vivaces.—Migración de los principios inmediatos en las plantas anuales y vivaces: hidratos de carbono, materias nitrogenadas, materias minerales. —Ley del mínimo. — Migración en general y su mecanismo.— Maduración de las semillas y de los órganos de reserva; maduración de los frutos; formación de las materias grasas.—Desarrollo de algunas plantas herbáceas: trigo, centeno, remolacha, patata.

Ojeada general sobre el desarrollo de los vegetales.—Hemos examinado, en los precedentes capítulos, los fenómenos sintéticos que engendran la materia carbonada y la materia nitrogenada, así como las leyes que rigen la acumulación de la materia mineral en tal o cual parte de la planta. Vamos ahora a considerar un fenómeno más general. Cuando las condiciones exteriores de temperatura, humedad y riqueza del suelo en elementos de fertilidad están realizadas, el vegetal evoluciona: elabora sus tejidos, florece, fructifica; en las semillas o en los órganos subterráneos se acumulan substancias de reserva.

Vamos a estudiar estas diferentes fases de la evolución. Están esencialmente caracterizadas por un *transporte* de los alimentos desde el lugar en que se forman hasta el órgano definitivo en que se depositan. Este problema general de la evolución nos permitirá reunir los datos que ya hemos adquirido anteriormente y completarlos en algunos puntos. En realidad, los fenómenos de asimilación clorofiliana, de forma-

ción de las substancias nitrogenadas, de depósito de las materias minerales, se efectúan a la par cuando la circulación del agua en el vegetal se realiza normalmente: existe una estrecha relación que enlaza unas con otras estas diversas manifestaciones de la actividad vegetal. De la harmonía en el juego de este conjunto de reacciones resulta el desarrollo regular de la planta.

Desde el punto de vista fisiológico se puede decir que la hoja y el tallo no son más que órganos transitorios destinados, el primero a elaborar, el segundo a conducir las materias alimenticias a la semilla y al fruto, o a la raíz y a los órganos subterráneos. Cuando este almacenamiento ha terminado, también ha terminado la vida de la planta; ésta se seca y muere.

En el caso de las plantas vivaces, este almacenamiento se hace en el tronco y en las ramas, verdaderos depósitos destinados a suministrar el año siguiente los elementos necesarios para la evolución de las yemas.

La materia cuyas grandes líneas acabamos de abocetar será expuesta en el orden siguiente:

I. *Marcha general de la vegetación en una planta anual.* —II. *Fenómenos de crecimiento y de evolución en las plantas vivaces.* — III. *Migración de los principios inmediatos; migración de los hidratos de carbono, de las materias nitrogenadas y de las materias minerales en las plantas anuales y vivaces.* —IV. *Migración en general y su mecanismo.*—V. *Maduración de las semillas* y *de los órganos de reserva; maduración de los frutos.*—VI. *Desarrollo de algunas plantas herbáceas.*

I

MARCHA GENERAL DE LA VEGETACIÓN EN UNA PLANTA ANUAL

a. **Crecimiento.**—Cuando se quiere tener una idea exacta de los fenómenos de crecimiento en una planta anual, es necesario examinarla en diferentes épocas de su vegeta-

ción y determinar, en cada una de estas épocas, la cantidad de materia seca, y por consiguiente de agua, que contiene, así como las cenizas totales, los elementos de sus cenizas y los diversos principios inmediatos (hidratos de carbono, albuminoides, grasas) que entran en su composición. Se puede limitar, si se quiere tener simplemente una idea aproximada de la cantidad de materias nitrogenadas en ella contenidas, a hacer una determinación del nitrógeno total, cuya cifra, multiplicada por 6,25, expresa aproximadamente la riqueza del órgano o del vegetal considerados en substancias proteicas (las cuales contienen, en efecto, 16 por 100 de nitrógeno como término medio). La diferencia entre el peso total de la materia seca, menos las cenizas, y el de las substancias proteicas, indica la suma del conjunto de los compuestos orgánicos no nitrogenados.

He aquí un ejemplo, debido a Boussingault, de las variaciones del carbono, el hidrógeno, el oxígeno, el nitrógeno y las cenizas durante la vegetación del trigo (planta total; cifras que se refieren a 450 plantas).

	Pesos de materia desecada al aire gr.	C gr.	H gr.	O gr.	N gr.	Cenizas gr.
19 de mayo de 1844	323,4	120,5	18,7	166,0	5,8	12,0
9 junio (florescencia)	1060,0	406,5	66,8	552,3	9,5	26,5
15 de agosto (recolección)	1880.1	699,4	187,8	960,7	16.9	75,2
Aumento de peso:						
1.º Del 19 de mayo al 9 de junio. .	735,6	286,0	48,1	386,3	3,7	14,5
2.º Del 9 de junio al 15 de agosto.	820,1	292,9	121,0	408,4	7,4	48,7

Vamos a presentar ahora un cuadro de las variaciones del peso de los diferentes órganos del trigo, la mostaza blanca y el clavel en las épocas antes indicadas.

Trigo de marzo (sembrado en 19 de marzo de 1898)
1 semilla seca pesa 0,0447 gr. (agua en 100 p. de materia fresca = 14,30)

		I Peso de una planta desecada a 110° gr.	II Relaciones centesimales	III Agua en 100 partes de materia fresca
13 de mayo		0,438	»	88,7
1.° de junio	Raíces	0,156	9,1	82,2
	Tallos	0,664	38,8	88,2
	Hojas	0,888	52,1	84,1
		1,708	100,0	
20 de junio, antes de la formación de las espigas.	Raíces	0,202	5,2	80,7
	Tallos	2,392	61,9	83,0
	Hojas	1,266	32,9	72,4
		3,860	100,0	
11 de julio, fin de la florescencia.	Raíces	0,276	4,1	65,9
	Tallos	4,400	66,3	72,2
	Hojas	1,268	19,1	64,9
	Espigas	0,686	10,5	68,1
		6,630	100,0	
25 de julio, semillas todavía lechosas.	Raíces	0,372	3,8	73,0
	Tallos	5,698	58,3	68,8
	Hojas	1,794	18,3	46,7
	Espigas	1,896	19,6	64,0
		9,760	100,0	

Las variaciones totales del peso seco de la planta han sido sucesivamente las siguientes, suponiendo la semilla seca = 1: la planta en 13 de mayo = 10, el 1.° de junio = 38, el 20 de junio = 86, el 11 de julio = 148, el 25 de julio = = 218.

Sinapis alba (sembrada en 13 de mayo de 1908).

1 semilla seca pesa 0,0043 gr. (agua en 100 p. de materia fresca = 6,95)

		I Peso de una planta desecada a 110° gr.	II Relaciones centesimales	III Agua en 100 partes de materia fresca
11 de junio		0,0990	»	91,1
22 de junio, principio de la florescencia.	Raíces	0,081	10,9	85,7
	Tallos	0,306	41,1	91,8
	Hojas	0,357	48,0	86,0
		0,744	100,0	

		I Peso de una planta desecada a 110° gr	II Relaciones centesimales	III Agua en 100 partes de materia fresca
6 de julio, florescencia completa.	Raíces . .	0,315	14,7	76,5
	Tallos. . .	0,934	43,5	84,8
	Hojas. . .	0,500	23,3	85,3
	Ejes florales . . .	0,395	18,5	83,8
		2,144	100,0	
26 de julio, fructificación.	Raíces . .	0,400	7,5	61,0
	Tallos. . .	1,555	29,4	72,0
	Hojas. . .	0,477	9,4	78,0
	Ejes florales . . .	2,857	54,1	72,2
		5,299	100,0	

Las variaciones totales del peso seco de la planta han sido sucesivamente las siguientes, suponiendo la semilla seca = 1: la planta en 11 de junio = 23, en 22 junio = 173, en 6 de julio = 498, en 26 de julio =1230.

Papaver somniferum nigrum

		I Peso de una planta desecada a 110° gr.	II Relaciones centesimales	III Agua en 100 partes de materia fresca
13 de junio de 1910.	Raíces . .	0,328	8,66	93,14
	Tallos. . .	0,578	15,28	95,07
	Hojas. . .	2,878	76,06	91,89
		3,784	100,00	
28 de junio, formación de las yemas florales.	Raíces . .	1,931	11,48	88,23
	Tallos. . .	6,984	41,50	90,71
	Hojas. . .	7,912	47,02	88,00
		16,827	100,00	
13 de julio, florescencia y principio de la fructificación.	Raíces . .	4,160	11,29	84,17
	Tallos. . .	17,872	48,54	88,83
	Hojas. . .	11,348	30,82	88,71
	Flores y frutos .	3,438	9,35	87,77
		36,818	100,00	

		I Peso de una planta desecada a 110° gr.	II Relaciones centesimales	III Agua en 100 partes de materia fresca
9 de agosto, fructificación.	Raíces . .	5,451	8,76	80,19
	Tallos. . .	23,852	38,34	81,61
	Hojas. . .	13,672	21,98	73,44
	Cápsulas .	19,228	30,92	76,90
		62,203	100,00	
23 de agosto, fructificación completa, hojas desecadas.	Raíces . .	6,554	9,29	76,04
	Tallos. . .	29,473	41,78	73,77
	Hojas. . .	12,698	18,00	45,50
	Cápsulas .	21,808	30,93	60,24
		70,533	100,00	

Comparemos por de pronto los aumentos sucesivos de la materia seca de la planta (materia orgánica y materia mineral). Todas las partes de la planta aumentan de peso *absoluto* desde el principio de la vegetación, según lo demuestran los tres cuadros precedentes; pero, este aumento varía esencialmente con el órgano considerado.

En los ejemplos elegidos, se observa que los tallos son los órganos que experimentan mayor aumento. En la *Sinapis alba*, cuya florescencia es abundante, los ejes que sostienen los frutos tienen, en el momento de la fructificación, un peso que representa más de la mitad de todo el resto del vegetal. El peso de la materia seca de las hojas que, generalmente, va creciendo hasta el fin de la existencia del vegetal, puede, después de la fructificación, experimentar una disminución más o menos notable a causa de la marcha en masa de los principios inmediatos elaborados en estos órganos hacia los óvulos en el momento de su fecundación. Volveremos pronto a este importante punto.

Si examinamos ahora el peso *relativo* de cada órgano, suponiendo que la planta total pesa 100 (columna II), he aquí lo que observamos. El peso de la raíz es considerable cuando la planta es joven; figura, en el caso del trigo, aproximadamente con el décimo de la planta total (1.° de junio). Pero, este peso no tarda en decrecer rápidamente; no representa, en el momento de la maduración, más que $\frac{1}{25}$ solamente del peso total de esta planta. En el *Sinapis*, el peso de la raíz es mucho más elevado; se alcanza el peso máximo

en el momento de la florescencia; representa entonces $\frac{1}{7}$ del peso total de la planta. Este peso disminuye mucho después. En el clavel, este peso sólo experimenta pequeñas variaciones durante el desarrollo del vegetal.

Este aumento del peso de las raíces en la primera edad es bastante general. Estas, en efecto, en esta época de la existencia del vegetal, se cargan en abundancia de sales minerales procedentes del suelo, las cuales se repartirán luego en los demás órganos.

El peso relativo del tallo permanece elevado mientras la planta está en plena evolución y hasta el período de maduración (más de 60 por 100 del peso del vegetal total en el trigo; más de 40 por 100 en el *Sinapis* y más de 50 por 100 en el clavel). Durante el período de maduración este peso disminuye.

El peso relativo de las hojas es el que acusa las variaciones más considerables. El peso seco de estos órganos va creciendo sin cesar hasta la época de la florescencia o, más exactamente, tiene en general su valor máximo antes de esta época. En efecto, la función clorofiliana es entonces muy activa; la hoja elabora hidratos de carbono, albuminoides y principios en los cuales la materia mineral figura por una gran cantidad. En esta época todavía no aparecen las flores. Este segundo período de la vida de la planta ha sido caracterizado por Dehérain y Bréal por la expresión de *predominio de la hoja*, estando caracterizado el primer período por la de *predominio de la raíz*. En este segundo período la planta procede a un almacenamiento de todas las substancias que la vida celular es capaz de elaborar. En el clavel el peso de las hojas es considerable antes de la aparición de las yemas florales (76 por 100 del peso de la planta total); disminuye en seguida rápidamente y no representa, en el momento de la fructificación, más que el quinto del peso de la planta total.

Desde que las flores se marchitan, un movimiento de migración se lleva la mayor parte de los materiales que la hoja ha acumulado momentáneamente: por esto su peso relativo disminuye desde el momento de la florescencia hasta el de la maduración. Es fácil comprobar esto en los ejemplos anteriores.

Con la florescencia y la fecundación de los óvulos principia, pues, un tercer período de actividad del vegetal, período de *distribución* de las materias que la síntesis fotoquímica ha elaborado; por consiguiente, período de *transporte*.

La asimilación clorofiliana, la producción de los albuminoides y la absorción de las materias minerales pasan al segundo lugar; por otra parte sufren una disminución cada vez más marcada.

Si ahora examinamos la *cantidad de agua* contenida en cada órgano, desde el principio de la vegetación hasta la época de la madurez, observamos que todos los órganos poco a poco se deshidratan. Esta deshidratación es muy marcada en las raíces del *Sinapis*; lo es menos en las del trigo y del clavel. Las hojas del trigo,

por el contrario, se desecan rápidamente tan pronto como ha terminado la florescencia. Veremos más adelante que esta deshidratación es una de las causas del movimiento de migración, hacia los óvulos, de los principios contenidos en la hoja.

b. **Variaciones del nitrógeno total y de las cenizas.** —He aquí el cuadro de estas variaciones examinadas en las mismas plantas y en las mismas épocas que anteriormente.

		Nitrógeno total		Cenizas totales	
		En 1 planta seca	Por 100 de la materia seca	En 1 planta seca	Por 100 de la materia seca
		gr.		gr.	
Trigo (en la planta total).	13 de mayo .	0,0203	4,65	0,0796	18,19
	1.º de junio .	0,0467	2,73	0,2640	15,45
	20 —	0,0594	1,54	0,5161	13,47
	11 de julio .	0,0848	1,27	0,6164	9,29
	25 —	0,1453	1,48	0,9405	9,63
Sinapis (en la planta total).	11 de junio .	0,0040	4,12	1,0334	33,74
	22 —	0,0269	3,61	0,1350	18,50
	6 de julio. .	0,0424	1,97	0,2513	11,72
	26 —	0,0642	1,21	0,5016	9,48
Clavel (en la planta total).	13 de junio .	0,1763	4,65	0,8668	22,89
	28 —	0,4562	2,71	2,8241	16,78
	13 de julio. .	0,7358	1,99	5,4412	14,77
	9 de agosto.	1,1826	1,90	8,0055	12.86
	23 —	1,2659	1,79	8,6768	12,58

El peso *absoluto* del nitrógeno total aumenta en la planta entera de una manera continua hasta el fin de su existencia; lo mismo ocurre con el peso de las cenizas totales, con las restricciones que hemos hecho a propósito de las excreciones (pág. 492). Se observará que, por el contrario, la proporción *centesimal* de estos dos elementos va decreciendo sin cesar. En efecto, el peso de las substancias hidrocarbonadas aumenta en proporciones mucho mayores que el de las substancias nitrogenadas y minerales. La cantidad de nitrógeno total y la de las cenizas son mucho más elevadas cuando la planta es joven, en el momento de la mayor actividad de la función clorofiliana (G. André).

A propósito de la migración de las substancias salinas examinaremos la repartición de los diversos elementos de las cenizas.

Particularidades que presentan las variaciones del peso de ciertos órganos durante el desarrollo de la planta.—Dehérain y Bréal (1881) han proporcionado interesantes ejemplos relativos a ciertas particularidades que se observan en las diferentes plantas anuales durante su desarrollo.

La acumulación de las substancias hidrocarbonadas, nitrogenadas y minerales en los dos primeros períodos de la vida de la planta no tiene otro objeto que suministrar a los óvulos fecundados, es decir, a las futuras semillas, las materias de reserva indispensables para la formación de éstas. Por esto, desde que ha terminado la fecundación, principia un movimiento de migración que transporta los materiales orgánicos y minerales de todas las partes de la planta, y especialmente de las hojas, hacia los óvulos. En el conjunto de estos materiales, los hidratos de carbono se encuentran siempre en cantidad suficiente en las diversas partes de la planta para que el órgano que los cede no se debilite demasiado a causa de la pérdida que así experimenta. Pero la materia nitrogenada, componente indispensable del protoplasma, no forma reservas como la fécula o los azúcares. A partir del momento en que comienza el transporte de esta materia hacia los óvulos, los órganos que la ceden sufren una pérdida sensible: se comprende que puedan entonces disminuir de peso o experimentar un retardo, si no un paro, en su crecimiento, puesto que algunas células, privadas de una cantidad mayor o menor de su nitrógeno de constitución, sufren una decadencia vital.

Una observación vulgar enseña que, cuando una planta anual lleva numerosas flores, y éstas son fecundadas todas a la vez en un corto período de tiempo, las hojas caen con bastante rapidez, y los tallos se secan; la planta no tarda en morir. Se comprende la razón de este hecho: una viva migración de las materias nutritivas, especialmente de la materia nitrogenada, hacia los óvulos, produce en la planta un daño que no siempre puede ella reparar. Pero, se concibe también que haya grados variables en la manera como la planta soporta esta migración; esta rapidez en el transporte de los materiales hacia los óvulos debe estar, *a priori*, subordinada al número de semillas que hay que proveer de substancias de reserva y a la época en que se forman. Aun cuando fuesen numerosas, si no todas las flores se desarrollan a la vez, el daño momentáneo que experimenta la planta está compensado por un nuevo trabajo de las células intactas, y la debilitación general de la planta es poco marcada.

Pero, si las flores se abren todas a la vez, si el número de hojas es limitado y si las hojas son de pequeñas dimensiones con relación a la masa total de la planta y, por consiguiente, disponen de reservas nitrogenadas poco considerables, la debilitación del vegetal será tal que no podrá recuperar las pérdidas que sufre a causa de este rápido movimiento de transporte de la materia alimenticia hasta las semillas.

Dehérain y Bréal han sido llevados así a distinguir tres casos en el desarrollo de las plantas herbáceas.

1.° La planta se recubre de numerosas flores que se abren simultáneamente. El peso de la materia seca del tallo llega en este momento a su máximo. Pero, la migración muy activa de las materias de reserva principia entonces, y luego sigue más lentamente hasta la muerte de la planta. Este rápido decaimiento, cuyas causas acabamos de explicar, es atribuíble a las pequeñas dimensiones y al corto número de las hojas. La pérdida de peso del tallo afecta a las cenizas y a la materia nitrogenada: la respiración determina igualmente una pérdida de substancia hidrocarbonada. Un fenómeno análogo ha sido observado, entre otros ejemplos, en la *Colinsia bicolor* (escrofulariáceas) y la *Sinapis nigra* (crucíferas).

2.° Cuando la florescencia es menos rápida y, por consiguiente, cuando el número de óvulos que hay que alimentar es menos considerable. la debilitación que experimenta la planta será sólo momentánea; el peso seco del tallo no disminuirá más que en una pequeña cantidad correspondiente a este primer movimiento de migración. La planta repara sus pérdidas y el peso del tallo vuelve a principiar a aumentar. Luego, a medida que se abren otras flores y que son fecundados sus óvulos, la planta sufre un nuevo decaimiento que se manifiesta por una disminución gradual del peso seco de su tallo hasta la desecación final de toda la planta. Tal es el caso observado en el *Delphinium Ajuis* (ranunculáceas).

3.° Por último, si la florescencia es poco abundante y el número y las dimensiones de las hojas son suficientes, se comprende que el movimiento de migración no se manifieste más que por una disminución poco pronunciada de la vitalidad de la planta; el peso seco del tallo no disminuirá ya, y será el máximo hasta el fin de la florescencia; pero, su aumento, en vez de ser uniforme durante la maduración, experimentará períodos de paro o de retardo que corresponderán a las épocas de migración activa. En este último caso, la planta repara continuamente las pérdidas que sufre por el hecho de la migración. Muchas plantas anuales pertenecen a este grupo: trigo, mostaza blanca, adormidera, etc.

II

FENÓMENOS DE CRECIMIENTO Y DE EVOLUCIÓN EN LAS PLANTAS VIVACES

Si se pasa de la observación de las plantas anuales a la de las plantas vivaces, se encuentran hechos de la misma especie: la acumulación de las substancias de reserva se hace en los órganos persistentes, tallos, tronco, raíces. Estas

substancias son empleadas, con frecuencia desde la primera primavera, en el desarrollo precoz de las yemas florales.

De un modo general puede decirse que el conjunto de los hidratos de carbono (solubles e insolubles) contenidos en los tallos y en las raíces de los árboles de hojas caducas (castaño, membrillero, peral, melocotonero, etc.), pasa por un mínimo en el mes de mayo en la época de mayor actividad de la vegetación; después aumenta de mayo a octubre o noviembre, llegando entonces a un máximo. A partir de este momento disminuye poco a poco hasta anularse en mayo (Leclerc du Sablon).

Se debe preguntar si el árbol o el arbusto, que llevan a veces numerosas flores, presentan señales de debilitación análogas a las que hemos descrito en las plantas anuales. Generalmente, la masa de los frutos es demasiado pequeña, respecto a la del vegetal, para que éste no se halle en estado de proporcionar las reservas necesarias para la formación de los frutos. Sin embargo, se observan con bastante frecuencia, en algunos árboles frutales que llevan gran número de frutos (ciruelo, peral), un amarilleamiento y una caída precoz de las hojas que corresponden a la pérdida rápida que han sufrido estos órganos de materias salinas. El mismo hecho se observa en las regiones del Mediodía en algunas vides.

Sentado esto, es ocasión de examinar ahora cuáles son las formas transitorias que afectan las diferentes substancias nutritivas durante este período de viaje o de migración, y cuáles son las leyes a que obedecen los fenómenos de transporte.

III

MIGRACIÓN DE LOS PRINCIPIOS INMEDIATOS

Migración de los hidratos de carbono, de las materias nitrogenadas y de las materias minerales en las plantas anuales y en las vivaces. — La migración, es decir, el transporte de las materias elaboradas en los órganos verdes de un punto a otro del vegetal, comprende tres grupos de substancias: *materias hidrocarbonadas, materias nitrogenadas* y *materias minerales*. El camino que recorren estas substancias a veces es muy largo, si se considera que las materias minerales tomadas del suelo deben penetrar

hasta la parte superior de un árbol, e inversamente que las materias carbonadas, elaboradas por la hoja, deben ir a la raíz.

Aquí es necesaria una observación general. Para que un fenómeno de migración se efectúe, es preciso que la substancia que es objeto de ésta sea difusible, que pueda moverse en forma soluble desde su punto de partida, por ejemplo, la hoja, hasta su punto de llegada (semilla o raíz). Generalmente, esta substancia existe en la hoja en una forma poco o nada soluble (fécula, albuminoides); *a priori*, deberá, pues, cambiar de naturaleza, simplificar su molécula, modificar, por consiguiente, su estado químico, a fin de poder circular hasta el punto del vegetal en que se depositará definitivamente. Una vez detenido el movimiento de transporte, la substancia de que se trata tomará de nuevo, por lo general, una forma insoluble; se condensará. Pero, el depósito así formado podrá diferir, en cuanto a su naturaleza, de la substancia inicial que los órganos verdes habrán elaborado y acumulado de un modo provisional. Así es como la fécula producida por las hojas de las compuestas se almacena en los órganos subterráneos de muchos vegetales pertenecientes a esta familia en forma de inulina.

La forma *intermediaria* soluble que una substancia en vías de migración está obligada a tomar es, generalmente, mal conocida. Si la fécula viaja en estado de sacarosa, de glucosa, de levulosa, términos cuya presencia es fácil demostrar, los albuminoides, por el contrario, no suministran, en la generalidad de los casos, substancias transitorias fáciles de definir. Esto se debe a que estas últimas casi siempre tienen una existencia efímera: pasando de unas células a otras, se reconstituyen a medida que es necesario en la forma condensada que afectaban en su origen. Volveremos más adelante a este tema.

Se puede concebir también que la membrana celular, cuya hemipermeabilidad es muy relativa, deja pasar las materias cuaternarias en un estado de condensación bastante avanzado, pero intermedio entre el albuminoide primitivo, muy poco difusible, y las numerosas amidas de estructura simple que resultan de una hidrolisis total de su molécula: estas materias corresponderían al grupo de las albumosas o al de las peptonas, primeros productos de una simplificación de origen diastásico de las moléculas albuminoides más complejas.

Esta permeabilidad de la célula respecto de substancias de peso molecular elevado está demostrada por el hecho de que ciertas grasas líquidas pueden atravesar la membrana celular y fijarse en el interior de la célula (Schmidt).

A. **Migración de las materias hidrocarbonadas.** — Sabemos que en la hoja es donde se originan los hidratos de

carbono, de los cuales la fécula representa el término más condensado. Mientras que la fécula se acumula en cantidades a menudo considerables en los órganos subterráneos, esta materia no se almacena en la hoja más que hasta cierto límite, y la cantidad que se encuentra en un momento dado en la hoja no es más que la diferencia entre la fécula que produce la función clorofiliana y la que desaparece, más o menos rápidamente, para ir a depositarse en otros órganos. En otros términos, la fécula que, en una época dada, se encuentra en el grano de clorofila, no representa más que una parte, a veces muy pequeña, de la que en él se ha formado.

La migración de los hidratos de carbono se efectúa de preferencia en la obscuridad, por consiguiente durante la noche. Desde que la planta se encuentra, aunque sea durante corto tiempo, en la obscuridad, la fécula emigra, y esta migración persiste en tanto que la iluminación es insuficiente. Cuando los días son cortos y la luz es poco intensa, esta fécula es alejada a medida que se forma (Sachs).

Se puede evaluar aproximadamente la cantidad de la fécula que existe en una hoja en un momento dado mediante un procedimiento muy sencillo, recomendado por Sachs. Se hierve la hoja fresca con agua durante algunos minutos, y luego se pone en alcohol caliente. Cuando está descolorada, se inmerge en un poco de agua adicionada de tintura de yodo, y se deja en este líquido hasta que no se presente ya ningún cambio de coloración. Por último, se la pone en un plato blanco lleno de agua. Cuando habrá sufrido este tratamiento, una hoja exenta de fécula tendrá un color amarillo pálido; presentará una coloración negra tanto más marcada, y hasta tendrá una especie de lustre metálico, cuando la cantidad de fécula sea algo considerable.

Si se quieren apreciar las variaciones de la fécula en una hoja en circunstancias determinadas, se arrancará una de las mitades de la hoja, respetando el nervio medio, y se someterá en seguida la parte arrancada a la prueba del yodo. La otra mitad queda adherida a la planta durante el experimento. Luego se la trata de la misma manera, y se compara su coloración con la de la primera mitad anteriormente arrancada.

La fécula, según hemos dicho antes, desaparece en la obscuridad. Por esto se debe esperar que se encontrarán las hojas más pobres en fécula por la mañana que al anochecer.

En la mayoría de los casos la fécula desaparece en su totalidad durante la noche y principalmente en las primeras horas de la misma. Pero, en noches frescas, algunas hojas conservan, a lo menos parcialmente, su fécula. Si se sigue por medio de la prueba del yodo la formación de la fécula en una hoja, se observa, sobre todo cuando la temperatura es suficientemente elevada, la aparición progresiva de esta subtanscia, la cual comunica al yodo el máximo de coloración hacia el anochecer. Para que esta aparición y esta desaparición puedan ser fácilmente observadas, es necesario que la planta presente un desarrollo normal; si vegeta en condiciones defectuosas, cualquiera que sea la naturaleza de éstas (insuficiencia de iluminación, pobreza de elementos nutritivos, exigüidad del vaso que la contiene), se encuentra por esto mismo en un estado especial de inercia que se manifiesta por un paro o un retardo de la asimilación o, simplemente, por un paro de la migración de la fécula.

Esta desaparición de la fécula, rápida en la obscuridad, puede observarse también a la luz solar cuando se mantiene la planta en una atmósfera desprovista de gas carbónico (H. Mohl). La rapidez de la disolución de la fécula depende igualmente de la temperatura. Cuanto más elevada es ésta, más rápida es la disolución. Un fenómeno semejante ocurre en las plantas que crecen al aire libre cuando la temperatura es bastante elevada: Sachs ha observado que, en ciertos días cálidos de verano, las hojas elaboran pero hacen desaparecer tan pronto su fécula que la reacción del yodo puede ser negativa, mientras que esta reacción indica la presencia de una gran cantidad de esta substancia cuando la temperatura es menos elevada.

He aquí, respecto de la desaparición de la fécula en la obscuridad, algunas cifras suministradas por los experimentos de Sapoznikow.

Una de las mitades de dos hojas de un *Helianthus* fué arrancada y en seguida analizada; la otra, adherida todavía a la planta, fué mantenida en la obscuridad. Las mitades arrancadas contenían 3,822 gr. de hidratos de carbono (referidos a la superficie de 1 m.^{2}). Después de estar mantenidas diez y siete horas en la obscuridad, las mitades que aun estaban unidas a la planta no contenían

ya hidratos de carbono. La pérdida por hora fué, pues, de 0,224 gramos.

Se hizo el mismo ensayo con la diferencia de que las mitades de las hojas destinadas al experimento, en vez de ser mantenidas en relación con la planta, fueron cortadas, inmergidas en el agua y conservadas luego en la obscuridad. La riqueza en hidratos de carbono, antes del experimento, era de 2,791 gr. (por metro cuadrado); al cabo de diez y siete horas de obscuridad se hallaban todavía, en las hojas mojadas inmergidas en el agua, 2,074 gr. La pérdida por hora ha subido sólo a 0,042 gr. La disminución de los hidratos de carbono ha sido, pues, cinco veces menor en las hojas cortadas que en las que permanecían aún unidas al vegetal. En este último caso, la fécula solubilizada y los hidratos de carbono solubles preexistentes no han podido salir. La pérdida de substancia es únicamente una *pérdida respiratoria*.

Hechos análogos han sido observados por Schimper (1886). En una planta de *Impatiens parviflora* se cortan tres hojas a lo largo siguiendo el nervio medio. Se ponen las partes cortadas en la obscuridad y lo mismo se hace con la planta. Se examinan en seguida las hojas opuestas a las que han sido cortadas, y se comprueba en ellas la presencia de grandes cantidades de fécula y de glucosa. El día siguiente se comparan las mitades de las hojas aun adheridas a la planta con las mitades que se cortaron el día antes: en unas y otras la fécula ha disminuído mucho, pero, la proporción de glucosa encontrada es mucho mayor en los fragmentos separados que en los que todavía están unidos a la planta.

Este experimento demuestra que la fécula, una vez formada, se disuelve en la hoja y sale de ésta en una forma soluble; en el fragmento de hoja separado se ha producido la solubilización, pero no ha podido salir el cuerpo soluble: por lo tanto, la glucosa se ha acumulado en él. Sabemos que la glucosa, por otra parte, es capaz de convertirse de nuevo en fécula cuando la concentración de su solución es suficiente (pág. 91). Se deduce de esto que la cantidad de glucosa que se ha formado, por efecto de la solubilización de la fécula en la misma hoja, tiene entonces una concentración tal que no ha podido efectuarse la reacción inversa: dicho en otros términos, se trata aquí de un *fenómeno de equilibrio*. Semejantes transformaciones están determinadas y limitadas por las proporciones en que se encuentran las materias que se hallan en contacto entre sí. Si el azúcar reductor que se forma por efecto de la disolución de la fécula es capaz de salir, se disuelve una nueva cantidad de fécula, y ésta puede desaparecer totalmente; pero, la persistencia de este azúcar reductor que, falto de emigración posible, permanece en presencia de cierta cantidad de fécula no disuelta todavía, impide que se efectúe una nueva disolución. La cantidad de hidratos de carbono solubles más allá de la cual la fécula deja de disolverse varía de una planta a otra.

En resumen, la acumulación del azúcar ejerce una acción retardatriz sobre la transformación de la fécula por las enzimas.

Existen plantas cuyas hojas nunca contienen fécula (muchas monocotiledóneas). Se ha supuesto que la abundancia de fermentos diastásicos en estas hojas era tal que la fécula era liquidada a medida que iba apareciendo. No hay nada de esto; no existe ninguna relación entre las cantidades relativas de fécula y glucosa y la abundancia de los fermentos diastásicos.

En principio, la formación de la glucosa debe preceder a la de la fécula; pero, es posible que esta última no se forme más que cuando la concentración de la glucosa llega a cierto límite, variable con la planta considerada. De manera que existirían plantas en las cuales no se formaría nunca fécula en las condiciones normales, mientras que, en otras, esta formación se efectuaría en presencia de soluciones de glucosa relativamente poco concentradas.

La real causa de la disolución de la fécula en las hojas y de su transformación en glucosa debe atribuirse a la presencia de la *amilasa* (pág. 132). Esta enzima está extremadamente esparcida: se la encuentra hasta en hojas que nunca contienen fécula (Brown y Morris). Por su acción, la fécula pasa por los términos intermedios de dextrina y maltosa. Esta, isómera del azúcar de caña, da por hidratación 2 moléculas de glucosa.

Las hojas contienen también *sucrasa* (pág. 131).

La secreción de la amilasa es muy activa durante la noche; se comprende, pues, que sea durante este período que la transformación y la migración de los hidratos de carbono procedentes de la función clorofiliana presenten especial actividad.

A propósito de los fenómenos de migración más interesantes que presentan las materias hidrocarbonadas, citaremos los dos ejemplos siguientes.

Migración de las reservas hidrocarbonadas en los árboles de hojas persistentes.—Leclerc du Sablon (1904) ha determinado cuantitativamente, en diferentes épocas del año, las reservas hidrocarbonadas contenidas en la raíz y en el tallo de la encina, el pino de Austria y el bonetero del Japón.

El cuadro adjunto indica las reservas hidrocarbonadas totales en 100 partes de materia seca de la encina (azúcares y materias amiláceas transformables en glucosa por hidrolisis).

	21 de enero	15 de marzo	5 de mayo	24 de junio	16 de agosto	4 de octbre.	25 de novbre.	16 de enero
Raíces . .	31,4	33,4	39,9	29,8	15,5	22,6	23,0	29,9
Tallos . .	21,6	22,4	23,3	19,2	18,1	18,4	18,9	18,7

Estas variaciones de los hidratos de carbono son mucho mayores en la raíz que en el tallo. En estos dos órganos el máximo se halla a principios de mayo y el mínimo en agosto. Por el contrario, en los árboles de hojas caducas, el máximo se encuentra en octubre y el mínimo en mayo.

La diferencia que existe entre los dos grupos de árboles puede interpretarse de la siguiente manera. En el mes de octubre, cierta cantidad de materias de reserva se ha acumulado en el tallo y en la raíz de estos dos árboles. El castaño, árbol de hojas caducas, contiene más porque, en verano, la asimilación carbonada es más enérgica en las hojas caducas que en las hojas persistentes. A fin de octubre las hojas del castaño caen y la asimilación cesa; en este momento es cuando el árbol contiene el máximo de substancias de reserva. Por el contrario, en la encina, la asimilación continúa durante el otoño y el invierno y, por lo mismo, las reservas de este árbol deben aumentar. En esta época del año, por otra parte, el gasto está reducido a su mínimo, puesto que no se forman nuevos brotes y la respiración es poco intensa a causa de la disminución de la temperatura. Se comprende, pues, que el árbol puede contener el máximo de sus reservas a principios de la primavera, en la época en que se abren nuevas yemas. Cuando éstas se han desarrollado, las reservas sirven para la producción de nuevos brotes, y se comprende que el peso de estas reservas disminuya considerablemente, tanto en el árbol de hojas persistentes como en el de hojas caducas. Pero, en éste, la asimilación es más intensa; pronto repara las pérdidas debidas al crecimiento y, desde fin de mayo, las reservas principian a aumentar.

El árbol de hojas persistentes asimila, sin duda, durante todo el año; sin embargo, en primavera y en verano la asimilación es menos intensa que en el árbol de hojas caducas. El mínimo de peso de sus reservas se encontrará, pues, en una época más avanzada del año, en el mes de agosto.

Resulta de esto que el máximo de reservas que, en la planta de hojas caducas, se presenta en otoño en el momento de la caída de éstas, es alcanzado, en la planta de hojas persistentes, a principios de la primavera, en la época en que se abren las yemas. El mínimo, que se presenta en el mes de mayo en los árboles de hojas caducas, se encuentra transportado al mes de julio en los árboles de hojas persistentes. Acabamos de ver que estas diferencias se explican fácilmente, teniendo en cuenta las respectivas intensidades de asimilación.

El pino de Austria da resultados absolutamente comparables a los que da la encina. En el bonetero del Japón, cuya vegetación es más precoz, el máximo se halla en marzo y el mínimo en agosto.

Experimentos de descortezado anular. — Se observan interesantes fenómenos de migración cuando, en un árbol, se

suprimen, mediante una incisión anular, la corteza y los vasos conductores.

Entre los numerosos experimentos hechos relativos a este punto, citaremos los siguientes descritos por Leclerc du Sablon (1906).

Perales, membrilleros y boneteros del Japón, de tres a cuatro años, fueron sometidos a la operación siguiente. Un primer lote de estos árboles fué descortezado en las proximidades de la raíz, en 9 de febrero, antes del comienzo de la vegetación; un segundo, en 8 de mayo, cuando se han formando los primeros brotes. Un tercer lote sirvió de testigo. Aproximadamente cada dos meses, un lote de los árboles así tratados fué sometido al análisis. He aquí cómo se repartió la *suma* de las reservas hidrocarbonadas, referida a 100 partes de materia seca en el peral:

Fecha del mes en que la toma de muestra se efectuó	Raíces			Tallos			Hojas		
	Árbol no descortezado	Árbol descortezado en 9 de febr.	Árbol descortezado en 8 de mayo	Árbol no descortezado	Árbol descortezado en 9 de febr.	Árbol descortezado en 8 de mayo	Árbol no descortezado	Árbol descortezado en 9 de febr.	Árbol descortezado en 8 de mayo
18 de febr.	30,3	»	»	23,0	»	»	»	»	»
13 de abril	22,4	25,6	»	21,3	18,3	»	»	»	»
16 de junio	27,9	27,9	17,5	23,7	29,5	29,0	18,3	24,6	26,0
4 de agosto	29,2	26,5	18,3	24,7	33,2	27,0	18,3	25,3	25,0
24 de sepbre.	33,8	19,3	21,4	25,7	29,1	39,5	16,7	27.7	28.6
1 de dicbre.	29,3	17,4	17,5	25,4	25,9	25,8	»	»	»

Este experimento nos demuestra que las raíces de los árboles descortezados en febrero poseen, en 13 de abril, un peso de reservas hidrocarbonadas mayor que el de los árboles testigos. La migración normal que se produce, de la raíz al tallo en la época del principio de la vegetación, ha sido, pues, detenida por el descortezado. Por el contrario, después del mes de agosto, no pudiendo ya las raíces almacenar los productos que las hojas han elaborado, se mostrarán más pobres que las de las plantas testigos: inversamente, los tallos serán más ricos en materias hidrocarbonadas que los mismos órganos en las plantas testigos. Fácilmente se comprende que así debe ser: las raíces de los árboles descortezados se agotan poco a poco porque no reciben nada, o casi nada, de los tallos. Por otra parte, las reservas que proceden de la asimilación de las hojas, no pudiendo difundirse hasta la raíz, se acumulan en los tallos, y éstos contienen una cantidad de hidratos de carbono superior a la de los árboles testigos.

En los árboles que han sido descortezados en 8 de mayo se observan hechos algo diferentes. Su raíz, desde el mes siguiente, es más pobre en materias de reserva que la de los árboles testigos, puesto que el descortezado se ha efectuado después de la migración de las

reservas de la raíz hacia el tallo, pero antes de que éste haya llevado a la raíz los hidratos de carbono elaborados por las hojas. En una época más avanzada, los dos grupos de árboles descortezados suministran resultados del mismo orden.

En cuanto a las hojas, éstas contienen siempre más reservas en los árboles descortezados que en los testigos. En efecto, no pudiendo emigrar los productos de su asimilación hacia la raíz, se acumulan en sus propios tejidos y en los tallos.

A fines de invierno y al principio de la primavera, las reservas hidrocarbonadas se dirigen, pues, de la raíz al tallo: de mayo a octubre siguen el camino inverso.

Estos experimentos permiten explicar el considerable aumento de la cosecha que se obtiene descortezando ciertas ramas de los árboles frutales.

B. **Migración de las materias nitrogenadas.**—Sabemos que la materia albuminoide se forma en la hoja a expensas del nitrógeno mineral. De ella emigra al tallo, que la conduce a los óvulos por una parte y a los órganos subterráneos por otra. Si la mayor parte del nitrógeno se halla en forma albuminoide en la hoja, se encuentra también en ésta cierta cantidad de nitrógeno en la forma menos compleja de nitrógeno amidado.

En los órganos definitivos en que se deposita, el nitrógeno entra en sus $\frac{9}{10}$ en la forma proteica en las semillas; pero, en los órganos subterráneos, bulbos, tubérculos, cebollas, se encuentra el nitrógeno en forma amidada en una proporción mucho mayor: el nitrógeno de estas amidas puede representar de 40 a 60 por 100 del nitrógeno total.

¿Cuáles son las diferentes fases de la migración del nitrógeno? Se puede admitir que, del mismo modo que la fécula toma la forma de glucosa para dirigirse desde la hoja hacia el órgano donde se deposita de manera definitiva, así también el nitrógeno proteico, atacado por las *enzimas proteolíticas* (pág. 259), sufrirá una serie de simplificaciones que lo llevarán al estado de amidas: éstas se condensarán de nuevo en su punto de llegada y regenerarán una substancia proteica.

Las formas conocidas y bien definidas de esta simplificación son los *ácidos amínicos*: leucina, tirosina, glutamina,

asparagina principalmente. Este último cuerpo frecuentemente se halla en los tallos. Según Borodin, las ramas de árboles, puestas en la obscuridad, pueden acumular esta amida por un mecanismo análogo a lo que ocurre en las plantas ahiladas.

Muchos experimentadores han observado en las hojas, los tallos, las cortezas, los brotes jóvenes, la presencia de estos productos de simplificación de la substancia proteica; también han sido señaladas otras substancias, más raras o menos abundantes, como la alantoína, la xantina, la hipoxantina, la guanina, etc.

Es, pues, muy probable que los albuminoides, que están continuamente en vías de formación y de regresión, tomen una forma más simple y más difusible en el momento de su migración. Pero, mientras que es fácil seguir su evolución y determinar cuantitativamente los hidratos de carbono solubles—a lo menos refiriéndolos a un tipo único, la glucosa,—es mucho menos fácil hacer el mismo estudio cuando se trata de apreciar la *naturaleza exacta* y sobre todo la *cantidad* de los productos engendrados por la simplificación de los albuminoides. No existe actualmente ninguna determinación cuantitativa respecto de las sucesivas metamorfosis de la materia nitrogenada de la hoja en los diferentes períodos de su evolución. No se tienen sobre este punto más que datos bastante imperfectos, excepto en algunos casos particulares. Añadamos que los procedimientos de separación de los ácidos amínicos entre sí son de delicada ejecución.

En resumen, el nitrógeno es, en la planta, una substancia tan móvil como los hidratos de carbono; pero, las numerosas formas de este nitrógeno son difíciles de definir. Una fracción, a menudo considerable, del nitrógeno total de la planta anual circula en sus tejidos en forma soluble. Se puede evaluar aproximadamente la cantidad de este nitrógeno *soluble*—compuesto, como hemos dicho, de una mezcla de substancias amidadas—haciendo hervir la materia durante unos diez minutos con agua que contenga 2 por 100 de ácido acético; se separa así, por filtración, casi la totalidad de las substancias amidadas. Se encuentra entonces que, durante el período activo de la vegetación, todos los órganos de la planta contienen una cantidad más o menos notable de nitrógeno soluble. Por ejemplo, en la mostaza blanca, al principio de la florescencia, los $\frac{2}{5}$ del nitrógeno total en el tallo, el $\frac{1}{3}$ en la raíz, el $\frac{1}{4}$ en la hoja se hallan en forma de nitrógeno amidado soluble. En la época de la florescencia completa

la cantidad absoluta de este nitrógeno soluble disminuye y no representa más que el $\frac{1}{4}$ del nitrógeno total de la planta entera, mientras que representa el $\frac{1}{3}$ aproximadamente de este nitrógeno total al principio de la florescencia. El nitrógeno soluble se dirige hacia las inflorescencias, las cuales pueden contener en este momento una cantidad que varía de 40 a 50 por 100 de su nitrógeno total.

Probemos ahora de darnos cuenta del *movimiento general* del nitrógeno en el curso de la vegetación.

Repartición del nitrógeno en la planta anual.—He aquí un ejemplo de la repartición del nitrógeno en el trigo, según Is. Pierre (1864):

	8 de junio Kg.	22 de junio Kg.	6 de julio Kg.	25 de julio Kg.
Nitrógeno total de las hojas en 1 hectárea	44,90	42,68	28,90	16,29
Nitrógeno de los nudos e internodios de los tallos.	14,27	25,58	19,62	8,62
Nitrógeno de las espigas. .	»	17,10	33,30	51,30
		85,36	81,82	76,21
Nitrógeno determinado en la cosecha entera		89,95	84,59	78,58

Así, el nitrógeno ha pasado de las hojas a los tallos y de los tallos a las espigas; las hojas son, pues, el sitio de la elaboración de las materias nitrogenadas, y éstas se acumulan en ellas, en cierto modo, de una manera transitoria. A medida que progresa la maduración, las espigas se enriquecen paulatinamente en las materias proteicas que les ceden las hojas. En el presente ejemplo, la suma del nitrógeno perdido por las hojas y los tallos, entre el 22 de junio y el 25 de julio, se eleva a 43,35 Kg., mientras que las espigas, en el mismo tiempo, no han ganado más que 34,10 Kg. de nitrógeno; esta disminución es probablemente debida a una caída de órganos desecados (hojas).

Un movimiento de migración análogo es bien visible en el caso de la *Sinapis alba*, respecto de la cual hemos expuesto antes (págs. 538 y 542) los pesos de materia seca y de nitrógeno total en diferentes épocas:

	Nitrógeno total					
	22 de junio		6 de julio		26 de julio	
	En una planta seca gr.	Por 100 de materia seca	En una planta seca gr.	Por 100 de materia seca	En una planta seca gr.	Por 100 de materia seca
Raíces . . .	0,0013	1,61	0,0018	0,58	0,0014	0,36
Tallos. . .	0,0087	2,87	0,0186	0,93	0,0127	0,82
Hojas. . .	0,0169	4,75	0,0189	3,78	0,0130	2,73
Ejes florales y semillas.	»	»	0.0131	3.32	0,0371	1.30

Las mismas observaciones que antes relativamente a la migración del nitrógeno. Pero, aquí la pérdida del nitrógeno de las hojas y de los tallos llega a 0,0118 gr., mientras que la ganancia de los ejes florales y de las semillas llega a 0.0240 gr. El exceso de este nitrógeno debe ser atribuído a una absorción tardía de esta substancia.

Se observará que la cantidad de nitrógeno contenida en los ejes florales y en las semillas, referida a 100 partes de materia seca, es mucho más elevada el 6 de julio (3,32) que el 26 (1.30). El aumento de las materias nitrogenadas es siempre más rápido al principio de la formación de la semilla que en una época más avanzada de la maduración; esto es un hecho general. Encontraremos más adelante otros ejemplos.

He aquí un nuevo ejemplo de migración del nitrógeno en la colza. El siguiente cuadro indica la cantidad de nitrógeno (en kilogramos) contenido en una cosecha en la superficie de una hectárea (Is. Pierre):

	Raíces Kg.	Tallos Kg.	Hojas verdes y hojas muertas Kg.	Ramas que llevan flores y silicuas Kg.
22 de marzo de 1859.	10,28	18,42	47,30	11,84
2 de abril — .	10,86	21,75	44,35	16,26
6 de mayo — .	9,73	35,83	36,23	29,63
6 de junio — .	7,53	22,69	8,46	85,52
20 de junio — .	5,96	13,41	»	99,77

Citemos, además, el ejemplo del clavel, en el cual ya hemos examinado en conjunto la repartición del nitrógeno (pág. 542); en las columnas I, figura la cantidad de

nitrógeno contenido en cada órgano; en las columnas II, la cantidad de nitrógeno por ciento de la materia seca a 110°:

Nitrógeno total en una planta desecada a 110°

	13 de junio		28 de junio		13 de julio		9 de agosto		23 de agosto	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
	gr.		gr.		gr.		gr.		gr.	
Raíces. .	0,0100	3,05	0,0337	1,75	0,0474	1,14	0,0370	0,68	0,0563	0.86
Tallos . .	0,0168	2,92	0,1257	1,80	0.2073	1,16	0,2122	0,89	0,2652	0,90
Hojas . .	0,1493	5,19	0,2967	3,75	0,3665	3,13	0,3199	2,36	0,2857	2,25
Frutos. .	»	»	»	»	0,1145	3,33	0,6133	3,19	0,6586	3,02

C. **Migración de las materias minerales.**—*a.* **En la planta anual.**—Nos hemos ocupado ya en parte en este asunto cuando hemos hablado de la *repartición de los diversos elementos de las cenizas en los distintos órganos de las plantas* (pág. 445). Es indispensable volver a él algunos momentos a causa de las notables relaciones que presentan la migración simultánea de ciertas materias salinas y la de las substancias carbonadas y nitrogenadas del vegetal; cuando estas últimas, por ejemplo, cambian de lugar, el ácido fosfórico las acompaña. Hemos notado también las relaciones que pueden establecerse entre la formación de la fécula y la presencia de ciertas bases, como la potasa; también la potasa emigra en gran parte fuera de la hoja cuando la función clorofiliana se atenúa y los hidratos de carbono susceptibles de abandonar esta hoja van a depositarse en otros órganos.

¿En qué forma se realiza la migración de las materias minerales? Cuando el fósforo se encuentra formando parte de ciertos compuestos complejos en la hoja joven, estos compuestos, en la época de la migración, sufren evidentemente fenómenos de regresión análogos a los que presentan los albuminoides, y se puede admitir que el fósforo recobra el estado mineral para dirigirse luego al sitio donde se depositará de un modo definitivo. Llegado a su destino, entrará de nuevo en la constitución de una molécula compleja. Esto parece tanto más probable ya que los albuminoides, como hemos dicho antes, no emigran más que en forma de amidas y éstas reconstruyen en su punto de llegada una nueva molécula proteica. El azufre debe comportarse de una manera análoga a la del fósforo.

En cuanto a la potasa, ésta se mueve en forma de sales de ácidos orgánicos; su insolubilidad en los órganos donde se acumula (raíces carnosas) es muy relativa, puesto que un tratamiento prolongado

con agua hirviente puede quitarla en totalidad, tal vez por efecto de una disociación de ciertas sales dobles poco solubles.

La migración de los elementos salinos se efectúa durante todo el tiempo que dura la vegetación, pero es especialmente activa a partir de la época de la fecundación. La planta toma del suelo las materias minerales que necesita mientras no ha terminado la florescencia. Después, la absorción es poco marcada en general; la del ácido fosfórico, en particular, se manifiesta hasta el momento de la florescencia; en este instante se detiene.

Así, se puede, en el caso en que se hace vegetar una planta en una solución salina nutritiva, suprimir ésta desde que la planta florece y no poner luego a disposición de las raíces más que agua sola. De todas maneras, existen vegetales que absorben las materias minerales hasta el momento de su desecación final. Es preciso tener aquí en cuenta las influencias meteorológicas; en un año húmedo, la vegetación se prolonga, y una planta que, en otras condiciones, no tomaría ya nada del suelo a partir del fin de su florescencia, podrá continuar substrayéndole substancias fijas hasta el término de la vegetación.

He aquí algunos ejemplos de migración del ácido fosfórico:

Ácido fosfórico en kilogramos, en una cosecha de colza en 1 hectárea (Is. Pierre)

	Raíces	Tallos	Hojas verdes y hojas muertas	Ramas que llevan flores y silicuas
	Kg.	Kg.	Kg.	Kg.
22 de marzo de 1859.	7,67	9,59	17,56	3,77
2 de abril —	8,00	14,64	17,23	5,09
6 de mayo —	10,35	31,14	18,59	23,23
6 de junio —	8,30	14,50	1,79	47,34
20 de junio —	8,32	10,45	»	64,66

Este cuadro, hecho a partir de experimentos en que se ha determinado a la vez la proporción de nitrógeno total (véase antes, pág. 555), nos muestra la disminución rápida del ácido fosfórico en los tallos y, sobre todo, en las hojas, así como el aumento correspondiente del fósforo en las ramas que llevan flores y silicuas.

He aquí otro ejemplo de migración del ácido fosfórico y de la potasa observado en la *Sinapis alba*. Hemos expuesto anteriormente la marcha de la migración del nitrógeno en esta planta (pág. 555):

		En una planta seca				En 100 p. de mat. seca			
		Raíces	Tallos	Hojas	Inflorescencias	Raíces	Tallos	Hojas	Inflorescencias
		gr.	gr.	gr.	gr.				
Ácido fosfórico	21 de junio.	0,0011	0,0050	0,0050	»	1,36	1,65	1,42	»
	6 de julio.	0,0029	0,0083	0,0059	0,0083	0,92	0,89	1,19	2,12
	26 de julio.	0,0018	0,0085	0,0046	0,0380	0,47	0,55	0,97	1,33
Potasa	21 de junio.	0,034	0,0125	0,0130	»	4,24	4,09	3,65	»
	6 de julio.	0,0086	0,0394	0,0196	0,0118	2,74	4,22	3,93	3,00
	26 de julio.	0,0060	0,0324	0,0130	0,0408	1,51	2,09	2,74	1,43

La parte izquierda del cuadro, que se refiere a la *cantidad absoluta* de ácido fosfórico y de potasa contenida en una planta seca, pone de manifiesto la disminución progresiva de estas dos substancias en las hojas y su aumento correspondiente en las inflorescencias; la parte derecha (composición centesimal) nos enseña que, cuando el desarrollo del sistema floral está poco avanzado, las dos materias fijas citadas existen en mayor abundancia en los diversos órganos que en una época próxima a la madurez, porque, entre estas dos épocas, se efectúa una producción de materia carbonada cuyo peso sobrepuja al de las materias fijas absorbidas.

Veamos también el siguiente ejemplo relativo a la migración del ácido fosfórico y de la potasa en el clavel (respecto de la migración del nitrógeno, véase la pág. 556).

		En una planta desecada a 110°				En 100 partes de mat. seca			
		Raíces	Tallos	Hojas	Frutos	Raíces	Tallos	Hojas	Frutos
		gr.	gr.	gr.	gr.				
PO^4H^3	13 junio . .	0,0062	0,0119	0,0526	»	1,89	2,07	1,83	»
	28 junio . .	0,0268	0,1159	0,1099	»	1,39	1,66	1,39	»
	13 julio . .	0,0536	0,3377	0,2269	0,0632	1,29	1,89	2,00	1,84
	9 agosto .	0,0348	0,1955	0,2119	0,4614	0,64	0,82	1,55	2,40
	23 agosto .	0,0294	0,1414	0,1726	0,5299	0,45	0,49	1,36	2,43
K^2O	13 junio . .	0,0231	0,0499	0.1935	»	7,35	8,63	6,72	»
	28 junio . .	0,0793	0,4106	0,3972	»	4,11	5,88	5.02	»
	13 julio . .	0,1368	0,6666	0,5288	0,1172	3,29	3,73	4,66	3,41
	9 agosto .	0,1275	0,6034	0,3226	0,3845	2,34	2,53	2,36	2,00
	23 agosto .	0,1605	0,8105	0,1752	0,4557	2,45	2,75	1,38	2,09

En resumen, la migración de las substancias hidrocarbonadas, nitrogenadas y minerales se efectúa, con una intensidad variable, en todos los momentos de la existencia del vegetal; tiene una rapidez especial cuando aparecen los órganos florales y, sobre todo, desde que acaba la fecundación.

Existe, pues, una notable armonía entre la evolución de la materia orgánica y la de la materia mineral; a la absorción de ciertos elementos salinos corresponde, ya la síntesis, ya la transformación de ciertos principios orgánicos. Estas relaciones entre los dos grupos de elementos no deben ser puramente cualitativas; es probable que a un peso determinado de una substancia mineral absorbida corresponda la formación de un peso determinado de materia orgánica. Estas relaciones todavía son imperfectamente conocidas; sin embargo, han sido estudiadas en algunos vegetales que tienen especial interés económico, según veremos luego (pág. 561).

b. **En la planta vivaz. Acumulación de las materias minerales en las ramas del año.** — Desde el momento en que ha acabado su crecimiento hasta la caída de las hojas que llevan las ramas del año, nacidas de una yema, almacenan substancias minerales y orgánicas y desempeñan el papel de depósito de materias nutritivas destinadas a alimentar la yema terminal que se abrirá el año siguiente.

Si se compara la composición de las cenizas de las semillas con la de las ramas despojadas de sus hojas, se encuentra que las primeras son siempre más ricas en ácido fosfórico y en potasa que las segundas. Estos dos elementos representan a menudo 75 por 100 del peso de las cenizas de las semillas, mientras que no figuran más que con una cifra igual a lo sumo a la mitad de la anterior en las cenizas de las ramas. Por el contrario, la cal es incomparablemente más abundante en estas últimas.

Caída de las hojas. — Desde la época en que se abren hasta la de su caída, las hojas se enriquecen de materias minerales de un modo continuo. Pero, dista mucho de haber acuerdo respecto de los siguientes puntos: ¿cuáles son las transformaciones que los componentes orgánicos experimentan al aproximarse el momento de la caída? ¿cuáles son las proporciones y la naturaleza de los elementos minerales que emigran?

Para ciertos autores (Wehmer, 1892), en el instante en que la hoja está fisiológicamente separada de la rama por formación de una capa de separación que determina su caída, ciertas materias minerales se eliminan, no a causa de una verdadera migración, sino por

lavado por la acción de las aguas pluviales. Sin embargo, Tucker y Tollens opinan que el lavado es poco eficaz, y que no quita al órgano más que una pequeña cantidad de principios minerales. Entre éstos, una parte de la potasa y del ácido fosfórico realmente emigraría hacia los tallos, mientras que la sílice, la magnesia y la cal no sufrirían variación. Esta última base se acumula hasta el fin. De todos modos, la salida de la potasa y la del ácido fosfórico no se efectuarían si la hoja no cae prematuramente por efecto de una temperatura demasiado baja.

El nitrógeno y los hidratos de carbono insolubles (fécula) parecen emigrar parcialmente hacia el tallo; sin embargo, la hoja, en la mayoría de los casos, todavía contiene fécula en el momento de su caída. Si los hidratos de carbono solubles parecen aumentar a veces en la hoja próxima a caer, debería atribuirse su presencia a una transformación de la fécula en azúcar por la acción de un frío temprano.

Este retorno parcial de ciertos elementos de la hoja al tallo ha sido sostenido también por Ramann (1912). Existe, en efecto, una diferencia de composición muy marcada entre las hojas todavía verdes y vivas y las que, muertas y secas, se desprenden de un árbol cuando se le sacude. Las últimas (según observaciones hechas en el roble, el abedul, el arce, la *Robinia)* presentan, con respecto a las primeras, un notable déficit en nitrógeno, potasa y ácido fosfórico.

Equilibrio entre la composición mineral y la composición orgánica del vegetal. — Se trata ahora de saber si el vegetal emplea en la producción de un peso determinado de materia orgánica una cantidad fija, poco más o menos, de elementos inorgánicos. Pues bien, si el peso de las cenizas varía, respecto de la misma cantidad de materia orgánica, de una planta de una especie a otra de especie diferente, la observación enseña también que, en una misma planta, son asimismo frecuentes tales variaciones (véase pág. 482).

A menudo se atribuyen estas diferencias a la naturaleza del suelo; pero, como ha hecho notar Pellet, estas anomalías desaparecen cuando se refiere el peso total de las cenizas a *una cantidad determinada de un producto especial,* sobre todo aquel por el cual la planta es cultivada: azúcar, en el caso de la remolacha; fécula, en el caso del trigo.

Un vegetal completo debe tener una composición constante desde el punto de vista de la cantidad total de materias minerales referidas a 100 gr. de un principio determinado.

Pellet (1879) ha demostrado, en efecto, que, cualquiera que sea la remolacha, 100 Kg. de azúcar exigen, en el vegetal completo, un peso aproximadamente constante de materia mineral que varía de 17 a 19 Kg. (comprendiendo el peso del gas carbónico contenido en las cenizas). Las raíces deben ser tomadas en la madurez, es decir, en el mes de octubre; porque la cantidad de cenizas relativas a la formación de 100 Kg. de azúcar está en razón inversa de la madurez de la raíz. Si se examina en este concepto la remolacha en el mes de agosto, se encuentra una cifra más elevada de cenizas (22 a 25 Kg.). Esta raíz no acumulará todo el azúcar que es capaz, en cierto modo, de contener más que después de haber formado todas las células aptas para contener este azúcar. La madurez llegará cuando habrá cesado el desarrollo de los tejidos. En cuanto a las hojas, éstas continuarán aún durante algunos días su función productora de azúcar. Solamente mientras dura la multiplicación celular se hace el almacenamiento de las substancias minerales y nitrogenadas.

Será preciso, pues, que la planta encuentre en el suelo, o que se ponga artificialmente a su disposición, una cantidad suficiente de materias minerales destinadas a la producción de un peso dado de azúcar.

Sin embargo, contra lo que se acaba de decir, si las raíces se desarrollan en un suelo saturado de diversas sales, la absorción de éstas podrá ser más o menos considerable; se está entonces en presencia de materias minerales *accidentales*, cuya acumulación se observa cuando el suelo contiene un exceso de sosa o, sobre todo, de potasa. El peso de las cenizas puede entonces variar cuando hay *substitución de los álcalis* entre sí; pero, la cantidad total de ácido sulfúrico necesario para saturarlos sigue aproximadamente el mismo; hay *substitución atómica*.

Esta substitución de unos álcalis por otros se efectúa, en ciertas plantas, en grande escala; en otras, por el contrario, es muy limitada. La influencia del terreno parece ser casi nula desde el punto de vista de la composición de las cenizas; esta influencia se limita a los fenómenos de substitución de la sosa a la potasa o a las tierras alcalinas.

Si se examina, según esta opinión, la cantidad de ácido fosfórico que exige la producción de 100 Kg. de azúcar, se encuentran cifras comprendidas entre 1000 y 1200 gramos. Según Pagnoul, cualquiera que sea la cantidad de ácido fosfórico de que pueda disponer una remolacha, sus raíces y sus hojas contienen siempre la misma proporción. El trigo se comporta de una manera análoga. Pero, por lo que toca al nitrógeno, las cifras son más variables y dependen de la proporción de nitrógeno que el suelo contiene. 1000 Kg. de azúcar exigen para formarse un peso de nitrógeno que varía de 2,5 a 7 Kg.

En resumen, parece que el peso de los elementos minerales indispensables para la formación de una materia orgánica determinada, oscila, generalmente, entre estrechos límites.

Estas observaciones necesitarían ser generalizadas. Según los experimentos de Lechartier sobre el topinambur, las hojas de un mismo vegetal presentan en su composición, desde el punto de vista de las materias minerales, diferencias notables según los años, la naturaleza del terreno y los abonos dados a la planta. No existiría correlación entre la riqueza en principios minerales de los diversos órganos de una planta y los rendimientos mayores o menores de la cosecha de que ella forma parte.

Sin embargo, se puede, con razón, objetar a estos últimos experimentos que la *inulina,* que constituye por excelencia el hidrato de carbono del topinambur, no ha sido determinada cuantitativamente. No se conoce, pues, la relación que existe entre esta substancia y la materia mineral absorbida por la planta. Si fuese conocida esta relación, el topinambur entraría en el cuadro de las plantas antes examinadas.

Sea lo que fuere, la noción de equilibrio en la materia mineral y la materia orgánica todavía es difícil de precisar.

En efecto, Dehérain demostró una vez que, si se plantan remolachas semiazucareras muy apretadas, dan una proporción de azúcar bastante considerable; pero, si las plantas están a gran distancia unas de otras, su riqueza sacarina dis-

minuye mientras que su riqueza en nitrato potásico aumenta mucho. No parece, pues, existir, en este caso, relación entre la cantidad de azúcar elaborado y la de la potasa absorbida.

Ley del mínimo.—Sabemos que entre las substancias minerales indispensables para el desarrollo de los vegetales existen estrechas relaciones. Cada una de estas substancias debe encontrarse en el suelo en proporciones y en formas tales que puedan asegurar la evolución perfecta de la planta.

Después de haber establecido los principios de la nutrición puramente mineral de los vegetales, Liebig formuló la siguiente regla fundamental: cuando uno de los elementos indispensables llega a faltar en el suelo—mientras que los demás se encuentran, no sólo en suficiente cantidad, sino en superabundancia,—la planta no puede evolucionar normalmente. Especialmente, en sus trabajos sobre la nutrición nitrogenada de la cebada, Hellriegel y Willfarth han demostrado que, existiendo todos los demás elementos minerales en proporciones convenientes, el peso de la cosecha es proporcional al peso del nitrógeno nítrico puesto a disposición de este cereal. Cuanto menor sea el peso del nitrógeno nítrico, menor será el de la correspondiente cosecha, y recíprocamente. Este hecho no sólo es exacto cuando se trata del nitrógeno nítrico, sino que también lo es para todos los demás elementos *plásticos* reclamados por el vegetal, según resulta de un gran número de ensayos hechos desde más de sesenta años.

Como consecuencia de esta harmonía *cuantitativa* entre todos los elementos, se ha llegado a enunciar una ley. llamada *ley del mínimo*, que puede expresarse de la siguiente manera: *La cantidad de materia orgánica capaz de ser obtenida en un suelo determinado depende de la cantidad disponible del elemento nutritivo menos abundante.*

En este enunciado no deben comprenderse solamente los factores que dependen del suelo, es decir, las materias alimenticias propiamente dichas, sino también todos los factores de la vegetación *que no forman parte del suelo*, como la temperatura, el grado de iluminación, las cantidades de

agua disponibles: en otros términos, los *factores climatológicos*. Expresada de esta manera más general, la ley del mínimo parece evidente *a priori*.

Una interesante discusión relativa a la validez y al alcance de esta ley se ha suscitado desde hace varios años (1909-1912) entre los agrónomos alemanes. Sobre todo, según Pfeiffer, y según Pfeiffer, Blanck y Flügel, la ley sería una *función lineal* mientras todos los factores de la vegetación, excepción hecha de aquel de que se trata, realizasen las mejores condiciones exigibles para el desarrollo de la planta. Pero, si algún otro factor se presenta con un mínimo relativo, se produce una perturbación en la función hasta entonces lineal. Cada divergencia, en el sentido que se acaba de indicar, demuestra que, independientemente del factor especialmente estudiado, uno o varios factores indispensables para la vegetación existen con un mínimo relativo.

Cuando se trata de experimentos hechos en pleno campo, el límite en el cual cesa el aumento proporcional de cosecha será alcanzado mucho más pronto que en los ensayos de laboratorio hechos en vasos de cultivo. En efecto, la regulación del factor *agua*, en particular, es imposible de realizar en el primer caso.

De sus numerosos experimentos en los cuales tomó al ácido fosfórico como elemento mínimo, Mitscherlich deduce, por el contrario, que la ley del mínimo no es una función lineal, sino que está representada por una función logarítmica.

No podemos discutir, por falta de lugar, el valor de los argumentos expuestos en pro y en contra de las fórmulas propuestas, y nos limitaremos a añadir las siguientes observaciones.

Según los trabajos de Mazé (1912) sobre el cultivo del maíz en medio líquido aséptico, las relaciones entre la planta y sus alimentos obedecerían a una ley, diferente de la precedente, que este autor propone llamar *ley de las relaciones fisiológicas*. El peso de una cosecha no dependería solamente de la *cantidad absoluta* de las materias alimenticias que esta cosecha encuentra a su alcance, sino que sobre todo dependería de sus *relaciones*. El citado autor demuestra que si un elemento indispensable se encuentra en exceso con relación a los demás elementos, pasa entonces a ser nocivo.

Sin embargo, Pouget y Chouchak (1912) opinan que la ley del mínimo no deja, por esto, de subsistir. En efecto, esta ley no puede ponerse de manifiesto más que si uno de los elementos nutritivos se encuentra, *mientras dura todo el experimento*, en proporciones insuficientes para subvenir a las necesidades de la planta. Se vuelve así al enunciado primitivo tal como ha sido expuesto anteriormente.

IV

MIGRACIÓN EN GENERAL Y SU MECANISMO

Vamos a examinar aquí cuál es el mecanismo de la migración y de qué manera se acumulan las reservas en una parte de la planta.

El papel de la ósmosis es preponderante en todas las cuestiones de transporte y de acumulación de las substancias de toda clase que contiene un vegetal. En diferentes ocasiones hemos insistido en este hecho. Los fenómenos que se relacionan con la presión osmótica nos suministrarán la solución buscada. Maquenne (1896) ha demostrado todo el partido que podía sacarse de las aplicaciones de la ósmosis; por esto debemos resumir ahora los principales datos que este autor ha proporcionado relativamente al almacenamiento del azúcar en la remolacha, única planta en que este estudio se ha hecho a fondo.

No hablamos evidentemente aquí más que de un caso particular, puesto que se trata de la acumulación de una substancia *soluble* y que, generalmente, las reservas de que están llenos ciertos órganos son insolubles (fécula) o muy poco solubles (inulina). Pero, el ejemplo elegido no es por esto menos sorprendente y, por otra parte, se refiere a una planta que presenta una enorme importancia industrial y respecto de la cual se han concentrado numerosos y muy variados trabajos. Por lo demás, será fácil generalizar los razonamientos que siguen.

Recordemos la ecuación general de los gases aplicable, como hemos visto en nuestro primer capítulo (pág. 38), a las soluciones.

$$(1) \qquad PV = RT.$$

En esta fórmula hagamos $P = 1033$ grs., presión producida por una columna de mercurio de 1 cm^2 de sección y de 76 cm. de altura; $V = 22{,}3$ l., volumen ocupado por 1 molécula-gramo de todos los gases; $T = 273$, temperatura absoluta correspondiente al cero centígrado: deducimos de ello la constante R de los gases:

$$R = \frac{1033 \times 22{,}3}{273} = 84.$$

Esta constante R es a la vez la de los gases y la de los cuerpos disueltos, como hemos dicho anteriormente.

Si en la fórmula (1) tomamos a P como incógnita y suponemos que T es igual a 273, es decir, el cero centígrado, tendremos:

$$P = \frac{RT}{V} = \frac{\frac{1033 \times 22,3 \times 273}{273}}{V} = \frac{1033 \times 22,3}{V}.$$

Si tenemos en un volumen de 1 litro una disolución de *p* gramos de una substancia cualquiera de peso molecular M, el volumen molecular de esta solución será igual a $\frac{M}{p}$. Si, además, expresamos las atmósferas en *unidades*, y no en gramos, 1033 pasa a ser igual a 1 atmósfera. Se tiene, pues:

$$P = \frac{p}{M} 22,3.$$

Tal es la expresión que da a 0° la presión osmótica de una substancia cuando se conoce el peso de esta substancia disuelta en un litro de líquido y su peso molecular M.

Cuando el jugo interior de una planta tiene una composición bien definida, el cálculo de la presión ejercida por este jugo sobre las paredes celulares puede hacerse fácilmente. Si se supone, por ejemplo, que en la célula de una remolacha, la solución de azúcar tiene la concentración de 20 por 100, la presión ejercida por este azúcar será $P = \frac{22,3 \times 200}{342} = 13$ atmósferas (342 = peso molecular de la sacarosa).

Consideremos ahora una remolacha en vías de crecimiento. Por efecto del funcionamiento regular de la asimilación clorofiliana, almacena sacarosa en su raíz durante todo el período activo de su vegetación, y este azúcar persiste. Debe, pues, existir, en cualquier momento un *equilibrio osmótico* entre la parte aérea de la planta, productora de hidratos de carbono, y la parte subterránea que los almacena.

Tomemos dos células inertes, contiguas o no, pero que puedan cambiar su contenido por vía de ósmosis o de difusión, y supongamos que la una contenga azúcar invertido (mezcla equimolecular de glucosa y levulosa) y la otra sacarosa. A causa de la existencia de una doble corriente osmótica de la primera a la segunda, y recíprocamente, al cabo de cierto tiempo habrá identidad de composición en los líquidos de las dos células: cada una de ellas contendrá las mismas cantidades de sacarosa y de azúcar invertido.

Supongamos ahora que estas dos células son vivas, que la una forma parte de las hojas y la otra de la raíz de una misma remolacha. El análisis demuestra que, en este caso, la célula aérea *no*

contiene más que azúcares reductores, y la célula subterránea *no contiene más que sacarosa*. Por lo tanto, al pasar de la hoja a la raíz, los azúcares reductores se convierten en sacarosa no reductora, e inversamente. Por consiguiente, a la difusión se añade una *transformación* que conduce a la sacarosa cuando se efectúa de arriba abajo y al azúcar invertido cuando se hace de abajo arriba.

¿Cuál es la *causa* de esta transformación? Actualmente es desconocida; sólo se puede hacerla constar.

Limitémonos simplemente a buscar cómo se efectúan los cambios entre dos células, de contenido muy diferente, puesto que los fenómenos de difusión no pueden quedar suspendidos. La célula que contiene la disolución más diluída debe ceder agua a la que contiene la disolución más concentrada, de modo que, en el mismo volumen, estas dos células contengan el mismo número de moléculas en disolución. Notemos que el peso molecular de la sacarosa $C^{12}H^{22}O^{11}=342$. es aproximadamente el doble del de la glucosa o de la levulosa $C^{6}H^{12}O^{6} = 180$. El movimiento del agua no se detendrá más que en el momento en que la proporción centesimal de la sacarosa contenida en la célula subterránea sea poco más o menos el doble de la de las glucosas de la célula aérea.

En resumen, la presión osmótica en las hojas tiende a crecer de una manera constante por efecto de la formación de azúcares reductores que resultan del funcionamiento de la función clorofiliana. Estos azúcares se dirigen a la raíz, donde se condensan en una molécula de sacarosa. Este cuerpo, como hemos dicho, tiene un peso molecular aproximadamente el doble del de la glucosa (o de la levulosa); a fin de que el equilibrio osmótico se establezca entre las partes subterránea y aérea del vegetal, sería preciso—no considerando más que la presencia de las materias azucaradas—que hubiese en la raíz doble proporción de sacarosa respecto de la de azúcar reductor existente en las hojas.

Se deduce de esto que, si el equilibrio que acabamos de definir está regido por la ósmosis, se deberán encontrar siempre valores muy aproximados para las presiones osmóticas comparadas de las hojas y de las raíces de la misma planta. Pero, hemos de suponer aquí que las numerosas substancias, minerales y orgánicas, que acompañan a las materias azucaradas en la planta—y cuya influencia osmótica es real, pero no determinable,—no cambian el sentido del fenómeno.

La experiencia demuestra, en efecto, que hay realmente igualdad de presión; pero, el experimento *no es directo* y, para resolver el problema, acudiremos a la relación que existe entre el punto de solidificación de una disolución y la presión osmótica que ésta tiene (pág. 41).

Raoult ha dado la fórmula siguiente:

$$a = 18,5 \frac{\pi}{M},$$

en la cual π es el peso de la materia disuelta en 100 gr. de agua, a la disminución del punto de solidificación de esta solución, M el peso molecular de la substancia disuelta. Hemos encontrado antes que la presión osmótica P tenía por expresión $P = \frac{p}{M} 223$ (p = peso de la substancia contenida en 100 cm.³ de disolución).

Dividamos miembro a miembro estas dos fórmulas:

$$\frac{P}{a} = \frac{\frac{p}{M} 223}{\frac{\pi}{M} 18,5} = \frac{223\,p}{18,5\,\pi},$$

de donde

$$P = \frac{ap}{\pi} 12,05.$$

Es posible, pues, calcular la presión osmótica independientemente de los pesos moleculares por el solo conocimiento del peso del punto de solidificación de la solución y de su concentración en volumen y en peso: p y π se obtienen pesando los residuos secos de los zumos extraídos por expresión de las hojas y de las raíces, zumos que deben filtrarse en seguida.

Ejemplos de determinación de presiones osmóticas. — Las determinaciones efectuadas mediante este procedimiento demuestran que ***las presiones osmóticas son aproximadamente iguales en todas las partes de una misma planta.*** He aquí un ejemplo:

Zumo de la raíz	Punto de solidificación . . .	$-1°,27$
	Residuo seco p. 100 en peso.	12
	Residuo seco p. 100 de agua.	$\frac{12 \times 100}{88} = 13,64.$

Presión osmótica correspondiente:

$$1,27 \times \frac{12}{13,64} \times 12,05 = 13,5 \text{ atm.}$$

Zumo de las hojas	Punto de solidificación . . .	$-1°,12$
	Residuo seco p. 100 en peso.	5,25
	Residuo seco p. 100 de agua.	$\frac{5,25 \times 100}{94,75} = 5.54.$

Presión esmótica correspondiente:

$$1,12 \times \frac{5,25}{5,54} \times 12,05 = 12,8 \text{ atm.}$$

Maquenne hace observar que las presiones relativas a las raíces son algo superiores a las que corresponden a las hojas. Parece que está en contradicción con este hecho el que la migración se efectúa de las hojas a las raíces. Pero, debe notarse que las presiones deducidas de la ley de Raoult son las que se producirían a las temperaturas de solidificación indicadas, siempre muy próximas unas a otras. Y las hojas de las remolachas están, durante el día, a una temperatura constantemente más elevada que la de la raíz. Si se quisiera establecer entre estos números una relación más precisa, sería necesario someterlos a una corrección fundada en la diferencia de temperatura de los dos órganos. Esta corrección no puede hacerse exactamente, pero el cálculo demuestra que basta, en los casos menos favorables, una diferencia de 15° solamente para establecer el equilibrio perfecto. De este número a menudo debe pasarse, en cuyo caso la presión osmótica de las hojas puede llegar a ser superior a la de las raíces.

Otra consecuencia importante se deduce de estos experimentos. El azúcar existe en la remolacha en *estado libre* y no en combinación con algún otro principio poco estable. En efecto, la temperatura de solidificación del zumo es siempre muy inferior a la que corresponde a su riqueza sacarina; indicaría aun teóricamente, por término medio, una concentración doble. Esta diferencia demuestra que, lejos de estar en combinación, lo que, disminuyendo el número de moléculas presentes, disminuiría necesariamente el valor de a, el azúcar va acompañado en la raíz de la remolacha de otras substancias solubles más activas que él, es decir, de peso molecular menor.

Maquenne ha formulado la siguiente ley, que puede llamarse el *principio de las presiones osmóticas:*

Todo cuerpo soluble puede acumularse en un punto del organismo vivo cuando su formación en este punto ocasiona una disminución de la presión osmótica.

En virtud de esta ley las materias acumuladas en el organismo vegetal están siempre fuertemente condensadas. La teoría de Dehérain, relativa al transporte y a la asimilación de las materias minerales, no es más que un caso particular de esta ley (pág. 494).

Extensión del estudio de los fenómenos osmóticos a la explicación de los depósitos de materias en la planta.—Cuando la remolacha, durante el segundo año de su vegetación, forma un tallo, y luego da flores y frutos, la sacarosa disminuye en la raíz; asciende y se transforma, en la parte aérea, en azúcar invertido por un mecanismo inverso del que acabamos de describir. Este azúcar invertido se condensa para producir celulosa. La presión osmótica decrece, pues, en la parte aérea, a medida que se efectúa esta

condensación, y el equilibrio no se restablece más que por efecto de una nueva subida de sacarosa procedente de la raíz.

Frecuentemente ocurre que, en vez de un almacenamiento de azúcar en la raíz, se efectúan en la parte subterránea de una planta fenómenos de condensación más avanzados que los que transforman, en la remolacha, el azúcar invertido en sacarosa. La patata condensa las glucosas en fécula; el topinambur y muchos tubérculos pertenecientes a la familia de las compuestas, las condensan en inulina, etc. La ley de Maquenne interviene aun aquí para regular el sentido de esta condensación. A veces, como ocurre en un gran número de liliáceas, la glucosa emigra, simplemente y sin cambio de naturaleza, de la hoja a la raíz. Observemos, relativamente a la inulina, que, a pesar de la muy escasa solubilidad en el agua fría de este hidrato de carbono, se encuentra en *disolución* en la célula del tubérculo, se precipita por desecación, generalmente en masas amorfas, pero a veces en masas cristalinas o en esferocristales.

Los zumos vegetales contienen un gran número de materias solubles de muy variada naturaleza, según hemos dicho anteriormente. Pfeïffer hace observar que, si la presión osmótica es producida en más de la mitad por la sacarosa en la raíz de remolacha, y por la glucosa en la cebolla y en los pétalos de rosa, esta presión es producida en más de la mitad por el cloruro potásico en la *Gunnera scabra*, y en el 41 por 100 por el nitrato potásico en la médula del extremo del tallo del topinambur y en el pecíolo de los *Rheum*; en el *Oxalis*, esta presión procede sobre todo del ácido oxálico. En muchas *crasuláceas*, es atribuíble a los malatos alcalinos.

Influencia de la desecación de las hojas en el ascenso de las materias nutritivas en los órganos.—Dehérain ha demostrado, hace largo tiempo, que se podía explicar el movimiento de las substancias nutritivas, durante la desecación de las hojas, por medio de las siguientes consideraciones de carácter osmótico.

Si se examinan, hacia el mes de junio, las hojas de ciertas gramíneas, se observa que las hojas inferiores amarillean y se desecan poco a poco. El agua circula, pues, difícilmente en ellas, y las substancias disueltas que estas hojas contienen se concentran. El equilibrio osmótico que debe reinar en todo el vegetal no puede restablecerse más que suponiendo que las materias de reserva contenidas en la hoja emigran hacia el tallo. Este movimiento no sólo afecta a los hidratos de carbono solubles, sino también a los hidratos insolubles sobre los cuales actúan las diastasas hidrolizantes.

La desecación de los órganos inferiores es, pues, la causa del transporte de los principios inmediatos de la hoja al tallo, y después al óvulo. Llegados a este último órgano, los hidratos de carbono solubles cambian poco a poco de naturaleza; experimentan una fuerte condensación, y se ven aparecer generalmente crecientes

cantidades de fécula. Este movimiento ascensional de los hidratos de carbono solubles continuará mientras dure esta causa de insolubilización. No se detendrá, en las condiciones normales, más que cuando la cantidad de agua contenida en la planta esté reducida hasta tal punto que todo movimiento protoplásmico deba cesar forzosamente.

La causa de la insolubilización de los hidratos solubles podría buscarse en una *acción diastásica reversible* análoga a la que hemos descrito en el capítulo IV (pág. 129).

Supongamos que, a causa de lluvias abundantes, la desecación de las hojas inferiores tarda en presentarse; las células de estas hojas funcionarán más tiempo, el vegetal adquirirá mayores dimensiones y el movimiento de migración será retardado. Si, por el contrario, la estación es seca, la desecación aparece prematuramente y las hojas dejan de funcionar; no elaboran más que una cantidad de materia vegetal insuficiente, y las dimensiones del vegetal quedan reducidas.

Lo que acabamos de decir sobre el movimiento de las materias hidrocarbonadas se aplica igualmente a las substancias nitrogenadas. Lo mismo ocurre con las materias minerales, especialmente con los fosfatos. De todos modos, el ascenso de las materias nitrogenadas y el de los fosfatos son más rápidos que el de los hidratos de carbono, porque la semilla, en general, es tanto más rica en nitrógeno y en materias minerales cuanto más joven es esta semilla. A medida que madura almacena tanta mayor cantidad de hidratos de carbono cuanto más se acerca el término final de la maduración. Volveremos a ocuparnos en estos hechos a propósito de la evolución de las semillas.

Las substancias alimenticias tienden, pues, a acumularse en los óvulos tan pronto como ha terminado su fecundación. Si estos óvulos son separados, ya voluntariamente, ya por llevárselos los pájaros, todo movimiento de migración se detiene, y las hojas siguen verdes más tiempo.

Sin embargo, el movimiento de migración pronto se reanuda, pero *en sentido inverso, de arriba abajo*, y se ven aparecer nuevos tallos que arrancan de la base de la planta. En las condiciones normales, la parte alta del tallo es más rica en agua, materias nitrogenadas y materias hidrocarbonadas que la parte baja; lo contrario ocurre en el caso de la ablación voluntaria o accidental de los óvulos. Entonces la parte inferior del tallo es la que contiene en mayor abundancia las substancias indicadas procedentes de la parte superior. He aquí un ejemplo de esta migración inversa en un tallo de avena, por 100 partes de materia seca:

	Parte alta del tallo	Parte baja del tallo
Agua.	50,50	64,60
Substancias nitrogenadas . .	3,25	6,25
Materias azucaradas	2,93	6,37

(Dehérain y Nantier.)

Tal es el sentido general del movimiento de los principios inmediatos elaborados por la hoja y tal es la explicación racional que se puede dar del transporte de estos principios.

V

MADURACIÓN DE LAS SEMILLAS Y DE LOS ÓRGANOS DE RESERVA. MADURACIÓN DE LOS FRUTOS

Siendo este tema de importancia capital desde el punto de vista fisiológico y económico, le dedicaremos un estudio especial.

a. **Maduración de las semillas; fenómenos generales; agua y materias minerales.**—La proporción centesimal del agua, muy elevada en la semilla joven, va disminuyendo sin cesar a medida que ésta madura; lo mismo ocurre con la vaina que la contiene o con el eje en que está implantada. Pero, la deshidratación de la semilla es mucho más rápida que la de la vaina o del eje. Durante todo el tiempo que dura la maduración, el peso de la materia seca de la vaina (habichuela, altramuz) disminuye progresivamente: sin embargo, el aumento del peso de la materia seca de las semillas sobrepuja en mucho a la pérdida de peso de la vaina; las semillas no se benefician, pues, más que de una cantidad bastante pequeña de las substancias nutritivas que abandonan la vaina. Al acercarse la madurez, por el contrario, la pérdida de la materia seca de las vainas se vuelve considerable (pérdida respiratoria), mientras que el aumento correspondiente de la semilla es escaso.

Si la cantidad *absoluta* de las materias minerales contenidas en las semillas aumenta hasta su maduración completa, la proporción *centesimal* de estas mismas materias disminuye generalmente desde el principio de la maduración hasta el fin; repetiremos lo que hemos dicho antes respecto de este punto, a saber: que la materia orgánica de la semilla

aumenta más aprisa que la materia mineral. El mismo hecho se encuentra, por lo demás, en el vegetal entero.

Este ascenso, más rápido al principio, de la materia mineral parecería indicar que ésta debe desempeñar algún papel en las transformaciones de origen diastásico que experimentan ulteriormente los hidratos de carbono al pasar de la forma soluble a la forma insoluble. Particularmente el peso absoluto del ácido fosfórico aumenta en las vainas hasta cierto límite más allá del cual este principio disminuye. Pero, la emigración de este ácido, si se efectúa hacia la semilla, no suministra a ésta más que una pequeña cantidad de materia. En la semilla, por el contrario, el ácido fosfórico aumenta de un modo continuo.

Los máximos del ácido fosfórico en las vainas del altramuz y de la habichuela coinciden casi exactamente con los máximos del nitrógeno; en las semillas, el paralelismo es casi absoluto entre la absorción del nitrógeno y la del ácido fosfórico; a las variaciones bruscas en el aumento del ácido corresponden variaciones bruscas en el mismo sentido en el aumento del nitrógeno. He aquí el cuadro de estas variaciones para 100 semillas secas (en gramos):

			1903						
			14 julio	11 julio	17 julio	23 julio	30 julio	10 agt.	21 agt.
Altramuz	Vainas	PO^4H^3 . .	0,523	0,829	0,842	0,802	0,839	0.674	0,519
		Nitrógeno.	1,603	2.446	2,671	3,409	3,065	2,577	1,895
	Semillas	PO^4H^3 . .	0,123	0,280	0,559	0,997	1,382	1,881	2,038
		Nitrógeno.	0,345	0,742	1,487	2,920	3,952	5,861	6,048
			19 agt.	27 agt.	4 sept.	11 sept.	21 sept.	10 oct.	16 oct.
Habichuelas	Vainas	P^4OH^3 . .	0,489	0,723	0,850	0,839	0,651	0,416	0,269
		Nitrógeno.	1,267	1,636	1,612	2,197	1,443	1,194	0,848
	Semillas	PO^4H^3 . .	0,232	0,694	1,244	1,842	3,000	4,332	4,891
		Nitrógeno.	0,400	0,194	2,615	3,684	6,000	9,351	10,356

(G. André, 1904.)

Análogos fenómenos a los que acabamos de indicar respecto de las semillas se efectúan durante la maduración de los órganos subterráneos. Los tubérculos, bulbos, cebollas y raíces carnosas se deshidratan poco a poco, pero la propor-

ción de agua que contienen en su madurez es siempre mayor que la de las semillas. La diferencia es enorme en las raíces carnosas.

La proporción centesimal de las cenizas va decreciendo sin cesar en estos órganos a medida que se acerca la madurez. Citemos sólo el siguiente ejemplo relativo a la remolacha:

	20 julio	9 agost.	31 agost.	11 sept.	30 sept.	16 oct.
Cenizas en 100 partes de materia seca .	7,31	6,81	6,66	5,02	4,33	3,83

(Wolff.)

b. **Hidratos de carbono.**—Éstos aparecen primero en una forma soluble (azúcares reductores y no reductores); su insolubilización va siguiendo hasta la maduración completa de la semilla.

He aquí un ejemplo sacado de las investigaciones de Portele (1885) sobre el maíz (en 100 partes de materia seca de la semilla):

	Fécula	Glucosa	Sacarosa
Inmediatamente después de la florescencia . .	27,9	13,6	12,2
Semilla farinácea . . .	48,8	6,1	8,6
Semilla que amarillea. .	54,2	2,7	5,8
— . .	54,8	1,4	2,4
Madurez completa. . .	64,2	»	0,03

La semilla del centeno contiene hidratos de carbono no reductores que disminuyen de peso a medida que progresa la maduración, y son reemplazados poco a poco por la fécula. En el trigo se observan hechos análogos.

Si pasamos ahora al examen de los *órganos subterráneos de reserva*, observamos que éstos contienen primero elevadas proporciones de materias azucaradas solubles que se condensan poco a poco y suministran fécula. A veces esta fécula parece emigrar directamente de la parte aérea de la planta sin que se pueda observar la formación preliminar de una cantidad notable de hidratos de carbono solubles.

Una baja temperatura produce la transformación inversa de la fécula en azúcar de caña y glucosa en muchos tubérculos y rizomas. Müller-Thurgau (1883) atribuye esta acumulación de materia azucarada al paro de la respiración; basta elevar la temperatura para ver desaparecer el azúcar.

c. **Materias nitrogenadas.**—Durante el desarrollo de la semilla el nitrógeno de las amidas solubles es tanto más abundante cuanto más joven es ésta. En la época de la madurez, el nitrógeno en esta última forma representa solamente de 10 a 15 por 100 a lo sumo del nitrógeno total. Las amidas solubles se transforman, pues, paulatinamente en substancias proteicas, y esta transformación está relacionada con la deshidratación lenta de la semilla. Se trata, por lo tanto, aquí de un fenómeno inverso al que hemos observado respecto de las materias albuminoides durante la germinación.

En los órganos subterráneos de reserva el nitrógeno en la forma proteica es tanto más abundante cuanto más se acerca el órgano subterráneo a la madurez; sin embargo, el nitrógeno amidado está, por lo general, en proporción más elevada en el tubérculo maduro que en la semilla.

d. **Materias grasas.**—Todas las semillas contienen materias grasas. Si a veces no se hallan más que escasas cantidades, como ocurre en las semillas amiláceas, en cambio otras veces estas materias grasas existen en tales proporciones que forman casi la totalidad de las reservas de la semilla.

La formación de la grasa procede de la fécula y de los hidratos de carbono en general. Éstos, abundantes en la semilla no madura, desaparecen poco a poco a medida que aparece la materia grasa.

Las materias grasas se encuentran, ya en los cotiledones, como en la colza, el nogal, el almendro, ya en el albumen, como en el ricino o la adormidera.

Ciertos frutos tienen un pericarpo oleaginoso (oliva), en

el cual el aceite parece formarse a expensas de la manita, que es muy abundante en el fruto joven.

¿Cuál es el mecanismo de la formación de las materias grasas? Según algunos autores, el aceite sería elaborado en todas las partes verdes de la planta e iría a formar un depósito de reserva en la semilla (Mesnard, 1893).

Es más probable que la materia grasa se forma donde después se halla, es decir, en el órgano mismo que la almacena. Vamos a exponer este punto de vista.

Rechenberg (1881) ha sido el primero en demostrar que las dos substancias que componen una grasa (ácido graso de peso molecular elevado y glicerina) no se forman al mismo tiempo. Los ácidos grasos son los primeros que aparecen, y su peso es tanto mayor cuanto más joven es la semilla. Estos ácidos se eterifican después; de manera que, en la madurez, sólo se encuentra una grasa neutra mezclada, sin embargo, todavía con una pequeña cantidad de ácidos grasos libres, variable con la semilla considerada, pero bastante escasa. Leclerc du Sablon (1896) ha llegado a la misma conclusión respecto de la génesis de las materias grasas.

Sabemos que, durante la germinación, se produce un fenómeno inverso: la saponificación de las materias grasas neutras principia pronto, pero con una velocidad que varía con la naturaleza de la grasa.

Si muchas semillas son ricas en grasas, no ocurre lo mismo en los órganos subterráneos; generalmente éstos no contienen más que una pequeña cantidad (1 a 3 por 100), a excepción, sin embargo, del rizoma del *Cyperus esculentus* (28 partes de grasa, por término medio, en 100 partes de materia seca). La manera como se forman las materias grasas en los órganos subterráneos no ha sido hasta ahora objeto de ningún trabajo especial.

Se debe a Müntz (1886) un estudio relativo a la maduración de algunas semillas oleaginosas, especialmente de la de colza. He aquí el resultado de las transformaciones observadas por este autor en esta última semilla (estando los pesos expresados en miligramos):

	Peso de 100 semillas secas		Glucosa	Sacarosa	Fécula	Grasa	Materias nitrogenadas
1.° de junio de 1882.	121	Semillas verdes	10,1	13,0	24,2	17,2	24,4
7 — .	155	Id.	11,6	12,0	28,7	32,6	33,5
16 — .	191	Id.	9,6	9,8	25,6	60,1	75,8
27 — .	379	Id.	11,8	8,1	26,1	168,5	89,4
2 julio. .	494	Ennegrecimiento	12,4	22,9	13,1	215,6	93,9
7 — .	549	Madurez completa	»	25,2	8,3	227,9	105,3
13 — .	498	Madurez pasada	»	24,7	6,7	207,8	105,5

Se encuentra en 100 partes de materia seca:

			Glucosa	Sacarosa	Fécula	Grasa	Materias nitrogenadas
1.° de junio de 1882.	»	»	8 3	10,7	19,9	14,2	20,1
7 — .	»	»	7,4	7,7	18,5	21,0	21,6
16 — .	»	»	5,0	5,1	13,4	31,5	39,6
27 — .	»	»	3,1	2,1	6,8	44,4	23,6
2 de julio. .	»	»	2,5	4,6	2,6	43,6	19,0
7 — .	»	»	vestig.	4,5	1,7	41,5	19,1
13 — .	»	»	0,0	4,9	1,3	41,7	23,0

Entre la tercera y la cuarta toma de muestra, correspondiente al aumento brusco de peso, es donde se nota la más activa producción de aceite.

Los precedentes cuadros ponen de manifiesto la desaparición gradual de la fécula y de la glucosa, la persistencia de una pequeña cantidad de sacarosa hasta el fin y, sobre todo, un aumento muy rápido de la grasa. La formación de ésta se efectúa por saltos bruscos; disminuye al acercarse a la madurez. Estos saltos bruscos parecen coincidir con la asimilación de una fuerte proporción de materia nitrogenada. El peso de la fécula y el de las materias azucaradas siguen bastantes elevados y casi constantes durante todo el tiempo que dura la formación de la grasa en el primer período, como si estas substancias no concurriesen a esta formación o, más bien, como si se renovasen incesantemente. Se observa, después, una brusca disminución de la fécula. También debe notarse la disminución de la materia grasa a partir de cierto momento que coincide con el de la verdadera madurez. A la desecación de la semilla y a la de la silicua corresponde el paro de la acumulación de la materia grasa en la semilla.

He aquí cómo, en las mismas épocas, se comportan las silicuas en que están encerradas las semillas (substancias contenidas en 100 partes de materia seca):

	Glucosa	Sacarosa	Grasa
I	19,2	5,7	3,3
II	18,2	5,3	2,9
III	11,8	3,7	2,4
IV	6,12	1,4	3,5
V	indicios	2,9	3,3
VI	indicios	0,8	4,3
VII	»	»	»

La glucosa desaparece rápidamente y en su totalidad; la sacarosa disminuye también, pero nunca desaparece completamente. Se puede deducir de esto que las materias azucaradas contenidas en la silicua son las que han suministrado a la semilla la materia carbonada necesaria para la elaboración de la grasa. Esto parece tanto más probable ya que la reserva de materias azucaradas que contiene la silicua es considerable relativamente a las necesidades de la semilla. En efecto, en la misma época en que la grasa se forma en abundancia, el peso de la silicua sobrepuja en mucho al peso de las semillas que contiene.

Müntz deduce de esto que la materia azucarada contenida en la silicua es la principal fuente de que toma la semilla los elementos carbonados necesarios para la producción de la grasa. Esta debe formarse *donde después se halla* en la semilla, porque la proporción de grasa contenida en la silicua es, en conjunto, poco considerable.

La formación de la grasa en las *almendras dulces* es probablemente la consecuencia de una metamorfosis de los azúcares reductores y no reductores, según resulta de observaciones debidas a Vallée (1903).

Si, en el pericarpo y en la almendra, se determinan cuantitativamente la sacarosa, los azúcares reductores y la materia grasa, se encuentra que el pericarpo contiene proporciones relativamente constantes de azúcar reductor y de sacarosa durante la maduración. En la almendra, por el contrario, los azúcares reductores disminuyen progresivamente a medida que aparecen, ya la sacarosa, ya la materia grasa. La sacarosa va aumentando hasta la aparición del aceite, luego disminuye poco a poco y aumenta finalmente cuando la formación del aceite será menos activa. El pericarpo no contiene más que indicios de aceite.

En el cuadro que sigue se ha indicado el peso de las substancias determinadas en 100 partes del fruto, tal como es en el momento en que ha sido recolectado:

	Peso medio del fruto gr.	Pericarpo Sacarosa gr.	Pericarpo Azúcares reductores gr.	Pericarpo Grasa gr.	Almendra Sacarosa gr.	Almendra Azúcares reductores gr.	Almendra Grasa gr.
Fin marzo.	0,60	0,48	5,11	»	0,00	5,57	»
3 abril .	1,50	0,70	2,71	»	0,33	2,72	»
13 — .	4,44	0,59	3,01	»	0,43	2,92	»
25 — .	7,50	0,67	3,88	»	»	3,25	»
1.° mayo.	9,90	0,81	3,91	»	1,14	2,80	»
24 — .	12,10	0,84	5,67	»	1,09	2,97	»
12 junio .	11,50	0,61	4,90	»	1,65	0,92	indicios
21 — .	»	»	»	indicios	0,93	0,33	indicios
5 julio .	10,10	0,57	4,61	0,42	0,52	0,19	6,97
20 — .	9,20	0,77	3,95	0,30	0,54	0,28	14,35
1° octbre.	1,65	»	»	»	3,36	0,08	54,19

Observemos que las cantidades de los diferentes azúcares van disminuyendo, tanto si se relacionan con la materia seca como con la materia fresca, como en el cuadro anterior. Parece, pues, que haya en el pericarpo formación o aflujo constante de azúcares reductores y de sacarosa. Estos hidratos de carbono se acumulan luego en la semilla, donde concurren a la formación del aceite. Estas conclusiones son absolutamente las mismas que ha formulado Müntz a propósito de la colza.

Leclerc du Sablon ha determinado en las nueces y en las almendras maduras, no sólo los azúcares propiamente dichos, sino también las amilosas (fécula y dextrinas). La fécula existe en proporciones mucho mayores en las semillas jóvenes que en las semillas maduras, pero la disminución que este hidrato de carbono parece experimentar se debe al aumento rápido del peso de la semilla. Si se refiere el peso de la fécula al de una semilla determinada, se encuentra que esta substancia aumenta de un modo continuo hasta la madurez; se comporta, pues, como una verdadera materia de reserva.

Se ve, por lo que antecede, que la materia grasa experimenta un aumento muy rápido en las últimas semanas de la vegetación. Esto es lo que resulta también de un modo muy preciso de los experimentos de Is. Pierre con la colza:

	Materia grasa en 1 kilogramo de materia seca de la planta cortada en la base gr.	Peso total de las materias grasas contenidas en la cosecha de 1 hectárea Kg.
22 de marzo 1859.	31,0	97,00
6 de abril . . .	29,4	103,00
6 de mayo. . .	26,1	153,58
6 de junio. . .	73,1	527,05
20 — . . .	152,7	1231,26

En resumen, la materia grasa no se forma más que por metamorfosis de los hidratos de carbono; la planta, en este concepto, se comporta como el animal.

Gerber, estudiando el valor del *cociente respiratorio* en diferentes momentos del desarrollo de una semilla oleaginosa, ha demostrado que este cociente es inferior a la unidad al principio, mientras la consistencia de la semilla es blanda (ricino). En este momento, las proporciones de glucosa y de sacarosa son considerables; el aceite no existe todavía más que en muy pequeñas cantidades. El cociente respiratorio pasa a ser mayor que la unidad cuando el tegumento de la semilla se colorea y adquiere cierto grado de dureza. Las materias azucaradas disminuyen entonces rápidamente, y la grasa se forma en cantidades cada vez mayores.

Se puede expresar con una fórmula, como la siguiente, el cambio de un hidrato de carbono en un ácido graso superior:

$$6\ C^6H^{12}O^6 + O^{21} = \underset{\text{Ac. oleico}}{C^{18}H^{34}O^2} + 18\ CO^2 + 19\ H^2O; \qquad \frac{CO^2}{O^2} = 1{,}71,$$

o por la siguiente expresión:

$$20\ C^6H^{12}O^6 + 40\ O^2 = \underset{\text{Trioleína}}{C^{57}H^{104}O^6} + 63\ CO^2 + 48\ H^2O; \qquad \frac{CO^2}{O^2} = 1{,}57.$$

Se trata, pues, aquí, de una *oxidación incompleta,* como en el caso de la formación de los ácidos vegetales, ricos en oxígeno.

Pero, la diferencia es menos profunda entre estos dos fenómenos. Porque, cuando hay formación de ácidos a expensas de los hidratos de carbono, hay *enriquecimiento* de la planta en oxígeno; cuando hay formación de grasa hay *empobrecimiento* de la planta en oxígeno, puesto que se desprende, simultáneamente, en forma de gas carbónico, una gran cantidad de oxígeno que el hidrato de carbono contenía.

Se puede también suponer que una parte de la glucosa se desdobla, *simplemente y sin absorción de oxígeno,* en ácido graso, gas carbónico y agua:

$$17\ C^6H^{12}O^6 = 4\ C^{18}H^{34}O^2 + 30\ CO^2 + 34\ H^2O.$$

Todas estas reacciones son exotérmicas.

El cociente respiratorio se vuelve menor que la unidad cuando se sigue el experimento durante algunos días con las semillas de ricino separadas del fruto. En este momento, los azúcares casi han desaparecido completamente.

Fenómenos análogos a los que se acaban de describir ocurren durante la maduración de ciertos frutos ricos en materia grasa. De Luca ha puesto de manifiesto que las aceitunas verdes contienen

antes de su madurez grandes proporciones de manita $C^6H^{14}O^6$. Este alcohol hexavalente desaparece poco a poco para hacer lugar a la materia grasa. Del mismo modo que en la semilla de ricino, el cociente respiratorio es inferior a la unidad mientras el fruto está cargado de manita y no contiene más que indicios de aceite. Pero, este cociente pasa de la unidad cuando, en las aceitunas todavía verdes, la manita desaparece y el aceite se presenta en cantidades crecientes.

Del mismo modo que en la semilla de ricino, el cociente pasa a ser menor que la unidad si se continúa el experimento durante algunos días con los frutos separados del árbol. En este momento la manita ha desaparecido completamente.

Recordemos, al terminar, que los análisis hechos por Maquenne (1878) con los tallos de lino, en los diferentes períodos de la vegetación, demuestran que la materia grasa que se forma en los vegetales no resulta del desdoblamiento de un hidrato de carbono: derivaría de la glucosa por eliminación de oxígeno. En efecto, el carbono y el hidrógeno aumentan constantemente, aun durante la maduración de la semilla: por lo tanto, la planta continúa su asimilación. La materia grasa se engendraría a expensas de la glucosa formada en la parte superior del tallo. La glucosa perdería oxígeno por reducción para producir una materia grasa. Esta pérdida se realizaría en forma de gas carbónico, pero, tal vez, principalmente en forma de agua.

Luz y formación de las semillas.—Se deben a Combes (1913) algunas observaciones sobre el papel de la luz en la formación de las semillas.

Cuando se iluminan diversas especies vegetales con luces de diferentes intensidades, variando entre la intensidad de la luz solar directa y $^3/_4$, $^1/_2$, $^1/_3$ y $^1/_9$ de esta intensidad, se observan los hechos siguientes, considerando a los individuos desarrollados bajo intensidades luminosas cada vez más débiles. 1.° Mientras que el número total de los frutos de un individuo y, por consiguiente, el número total de las semillas disminuyen progresivamente, que el número de las semillas contenidas en cada fruto también disminuye y que la proporción de semilla mal formada aumenta en cada fruto, el volumen y el peso de las semillas buenas experimentan un aumento, pasan por un óptimo y disminuyen en seguida a medida que la iluminación va siendo más escasa.—2.° La proporción de las semillas capaces de germinar parece también pasar por un óptimo y disminuir en seguida. Este óptimo corresponde aproximadamente a la misma intensidad luminosa que el óptimo precedente.

El hecho de que el empleo de la luz solar, más o menos atenuada, permita obtener semillas mayores, de un poder germinativo más elevado, podría ser utilizado en el cultivo de las plantas destinadas a producir semillas cuando éstas suelen germinar mal.

Maduración de los frutos carnosos.—La mayoría de los frutos carnosos tienen cuando son jóvenes un sabor más o menos astringente; a medida que el fruto madura, adquiere un sabor más o menos azucarado. ¿A expensas de qué substancias se forma el azúcar? Esto es lo que vamos a examinar sumariamente.

Se ha creído mucho tiempo que la oxidación por el oxígeno libre de la atmósfera era la causa principal de la maduración de los frutos (Bérard, de Saussure). Frémy demostraba esta necesidad de la oxidación recubriendo los frutos de una capa de barniz: así separado del aire exterior, el fruto no maduraba.

Algunos autores han creído que las substancias básicas (cal, potasa) procedentes del suelo neutralizaban poco a poco a los ácidos, y que el azúcar de los frutos procedería de una transformación del tanino o de la sacarificación de la fécula por los mismos ácidos, en el caso en que este hidrato de carbono exista en los frutos.

Esta última opinión es exacta; en efecto, esto es lo que ocurre, especialmente en las manzanas. He aquí un ejemplo, debido a Lindet (1894), en el cual se comprueba la desaparición progresiva de la fécula y su transformación simultánea en materias azucaradas:

Peso de la fécula, de la sacarosa y del azúcar invertido en una manzana mediana (en gramos)

	Fécula	Sacarosa	Azúcar invertido
25 de julio	1,0	0,2	1,4
8 de agosto	1,6	0,4	2,3
23 —	2,2	0,6	3,8
7 de septiembre	2,9	1,2	4,2
21 —	2,3	1,5	5,0
4 de octubre	2,2	2,2	5,6
18 —	1,6	2,8	6,5
3 de noviembre	0,6	2,2	7,2

En cuanto a la idea emitida relativamente a la neutralización de los ácidos por las bases procedentes del suelo, es errónea; porque, en la uva madura y en la uva verde, hay la misma cantidad de bases.

La única opinión que se puede aceptar, y cuya demos-

tración ha sido dada de una manera satisfactoria, es que el azúcar procede de la oxidación incompleta de los ácidos. Este modo de ver, defendido primero por Pollaci, y luego por Beyer y Pfeiffer, ha sido objeto de gran número de trabajos. Especialmente los frutos en que predominan los ácidos se prestan a interpretaciones muy precisas en este sentido.

Los frutos llamados *ácidos* contienen, sin duda, de una manera preponderante un ácido (cítrico en los frutos de las auranciáceas, tartárico en la uva, málico en los frutos de las rosáceas), a lo menos cuando el fruto está maduro; sin embargo, se encuentra, durante el curso del desarrollo de estos frutos, una variedad bastante grande de los ácidos más diversos (succínico, glicólico, glioxílico, fórmico, etc.) Así, se ha preguntado si existía tal vez un ácido *primordial* que se engendrase directamente por reducción del gas carbónico en la función clorofílica. Según algunos sabios, este ácido sería el oxálico, del cual derivarían todos los demás por reducción (Brünner y Brandenburg). Esta hipótesis volvería a poner en discusión una antigua teoría de Liebig según la cual todos los ácidos emanarían directamente de la función asimiladora.

No podemos descender aquí a más pormenores, y nos limitaremos al enunciado de los hechos que mejor caracterizan la maduración de algunos frutos, sirviéndonos principalmente de los importantes trabajos que Gerber (1897) ha publicado sobre este punto. Estos trabajos se fundan, ante todo, en el estudio del cociente respiratorio de los frutos durante el período de maduración: hemos hablado ya de ello a propósito de la respiración de los frutos (pág. 388).

Sin embargo, se impone aquí una observación general. Después de la publicación de las hermosas investigaciones de Maquenne y Demoussy sobre la respiración (pág. 370), habría motivo para hacer algunas salvedades respecto de las conclusiones que se ha creído deber deducir del estudio de los cocientes respiratorios *aparentes* observados durante la maduración de los frutos. Formuladas estas restricciones, veamos sumariamente de qué manera se pueden interpretar las variaciones del cociente respiratorio aparente en el caso en que nos ocupamos.

Los cambios gaseosos de los frutos con la atmósfera son evidentemente bastante complicados. Como todo órgano viviente, el fruto respira; pero, su respiración debe depender de la naturaleza y de la

proporción de las substancias que contiene. Variará, pues, con las diferentes fases del desarrollo, puesto que metamorfosis más o menos profundas cambian de una manera lenta, pero incesante, la composición química de su propia substancia. Además, la respiración *intracelular* interviene en un momento determinado: el fruto produce alcohol, según demuestra el experimento; en este momento aparece lo que Gerber denomina *cociente de fermentación*.

El *cociente de ácidos* se observa cada vez que los frutos con ácidos (cítrico, tartárico, málico) están sometidos a una temperatura superior a cierto grado, variable con la naturaleza del ácido (30° para los frutos con ácido cítrico y tartárico; 15° para los frutos con ácido málico). La elevación del cociente respiratorio que entonces se observa es ciertamente atribuíble a la presencia de estos ácidos, porque se obtienen los mismos cocientes, superiores a la unidad, cultivando ciertos mohos en soluciones que no contienen, en cuanto a materia orgánica, más que los ácidos antes mencionados.

El *cociente de fermentación* se observa cuando el oxígeno no llega ya a las células en cantidad suficiente. Esta dificultad del acceso del oxígeno es atribuíble a la formación de *pectina* (página 178): ésta, por efecto de su hinchazón, produce la oclusión de los meatos intercelulares y disminuye la llegada del gas. La transformación de la pectosa en pectina no ocurre más que después de la desaparición completa del tanino, y en este instante es cuando se observa la aparición del cociente de fermentación.

Este último cociente difiere principalmente del cociente de ácidos: 1.°, por la época en que aparece. En los frutos recolectados antes de su madurez, no se manifiesta más que al fin de la maduración, mientras que el cociente de ácidos aparece desde el principio; 2.°, por la baja temperatura a que se puede observarle (aun a 0°), mientras que el cociente de ácidos no se presenta más que a una temperatura más elevada. Además, la cantidad de oxígeno absorbido por el fruto que presenta el cociente de fermentación es mucho menos considerable que antes de la aparición de este cociente; esta cantidad es, por el contrario, mayor cuando se observa el cociente de ácidos. Por último, el cociente de fermentación es la señal de una producción de alcohol y, a menudo, de ácidos volátiles; mientras que nada parecido ocurre en los frutos en la época en que éstos presentan el cociente de ácidos.

Maduración de los frutos en que predominan los ácidos.—Recordemos que el cociente respiratorio de estos frutos es, a partir de cierta temperatura, superior a la unidad, mientras que su acidez disminuye (pág. 388). Si no se alcanza esta temperatura *crítica*, el cociente es inferior a la unidad, y la acidez persiste.

La riqueza en azúcar de los frutos ácidos aumenta durante la maduración cuando el fruto ha sido separado del árbol. En el caso de

los frutos que contienen ácidos y fécula (manzanas), la disminución de la fécula, correlativa de la aparición de los azúcares, no puede explicar por ella sola el aumento de la materia azucarada. En realidad, la cantidad de azúcar que se forma corresponde aproximadamente a la suma de la fécula y de los ácidos desaparecidos.

La interpretación que acabamos de adoptar es particularmente verosímil en lo que se refiere a la maduración de la uva. Neubauer ha demostrado, hace más de treinta años, que la disminución de la acidez coincidía exactamente con el aumento del azúcar. Después de esta época, un gran número de trabajos hechos sobre este asunto, especialmente los de A. Girard y Lindet, no han hecho más que confirmar esta opinión.

He aquí algunas cifras sacadas de los experimentos de diferentes autores, relativos a las cantidades de materias azucaradas formadas durante la maduración de las frutas ácidas (en 100 partes del fruto supuesto desecado):

Pyrus salicifolia (Johanson, 1891)

	15 julio	30 julio	14 agost.	18 agost.	14 sept.	28 sept.	12 oct.
Ácido málico. . .	0,06	0,34	0,85	0,78	1,11	0,67	0,79
Materias azucaradas	1,32	1,58	2,13	3,67	9,06	9,28	11,31

Prunus avium (Keim, 1891)

	15 mayo	21 mayo	28 mayo	10 junio	19 junio
Acidez total . . .	0,213	0,310	0,412	0,421	0,462
Materias azucaradas	2,93	3,13	4,42	9,12	10,26

Vaccinium myrtillus (Omeis, 1889)

	9 junio	25 junio	7 julio	12 julio
Acidez total . . .	0,65	1,62	1,58	1,07
Materias azucaradas	0,02	0,42	1,90	5,06

Maduración de los frutos con tanino.—Gerber ha tomada como ejemplo los *Kakis (Diospyros kaki,* ebenáceas). Cualquiero que sea la temperatura, el tanino desaparece siempre antes de que el cociente respiratorio sea superior a la unidad. Cuando el tanino ha desaparecido, el acceso del oxígeno pasa a ser insuficiente, la respiración intracelular se manifiesta y el cociente supera a la unidad. Este *cociente de fermentación* aparece, pues, tardíamente; se le observa aun a temperaturas bajas, y es correlativo de la producción del alcohol.

El tanino desaparece por oxidación completa sin originar hidratos de carbono.

En estos ejemplos no es evidente que los ácidos puedan concurrir a la producción del azúcar.

Maduración de los frutos feculentos y de los frutos mixtos (plátanos, serbas, nísperos, etc.) — Estas frutas separadas del árbol, mucho antes de su maduración, y puestas en un local a una temperatura algo elevada, presentan tres períodos en su respiración. En el primero son oxidados los ácidos así como una parte del tanino; el cociente respiratorio es superior a la unidad, luego disminuye poco a poco y llega a ser inferior a la unidad cuando la oxidación de los ácidos es completa. En el segundo período, el resto del tanino es quemado, aparece la pectina, luego la fermentación intracelular acompañada de la producción de alcohol y de ácidos volátiles, origen del perfume de estos frutos. El cociente $\frac{CO^2}{O^2}$, por de pronto inferior a la unidad, se eleva poco a poco y sobrepuja a la unidad (cociente de fermentación). Es el período durante el cual el fruto amarillea y adquiere un aspecto mate.

Por último, en el tercer período, el fruto se pasa, sus células mueren, el cociente respiratorio disminuye, y la intensidad de la respiración se vuelve muy débil.

Estos mismos frutos, expuestos a una baja temperatura, no presentan más que los dos primeros períodos: el ácido málico persiste en ellos y les comunica un sabor acídulo.

En las peras, las ciruelas, los melocotones, que presentan un segundo período (período de fermentación) muy largo, falta el tercer período; el cociente respiratorio permanece igual a la unidad mientras existe materia azucarada (Gerber).

Se pueden deducir de los hechos que preceden algunas consecuencias interesantes. Los ácidos y el tanino desaparecen a temperaturas elevadas; es, pues, posible acelerar la maduración de los frutos que contienen estas dos materias, o su mezcla, exponiéndolos a una temperatura elevada. Se retardará la maduración de los frutos ricos en ácidos manteniéndolos cerca de 0°, cuando su respiración no presente período de fermentación.

En cuanto a los frutos que contienen tanino y cuya maduración termina por la aparición de un cociente de fermentación, no pueden ser conservados largo tiempo, ni a temperaturas bajas, ni a temperaturas altas, porque el tanino desaparece de la misma manera en los dos casos.

Los frutos con ácido málico (manzanas, serbas, nísperos), que transforman a temperatura relativamente baja su ácido en azúcar, podrán madurar en los climas fríos: los frutos con ácido tartárico y cítrico, que exigen una temperatura mucho más elevada para transformar sus ácidos, no pueden madurar más que en los climas cálidos.

o, si se han desprendido de los árboles, en locales cuya temperatura se elevará suficientemente.

En resumen, vemos que la maduración de los frutos ácidos, en los cuales hay transformación de un ácido en materia azucarada, no difiere, en cuanto a su mecanismo, de la reacción general que, en la planta carnosa, transforma en hidratos de carbono los ácidos que se han acumulado a baja temperatura y en la obscuridad (pág. 420).

VI

DESARROLLO DE ALGUNAS PLANTAS HERBÁCEAS

Terminaremos este estudio del crecimiento y de la maduración con el examen sucinto del desarrollo de algunas plantas especialmente interesantes desde el punto de vista económico e industrial. Nos limitaremos aquí a exponer solamente algunos puntos no señalados todavía anteriormente.

Trigo. — Uno de los hechos más notables de la maduración del trigo nos es proporcionado por la acumulación rápida de la fécula en la semilla durante las últimas semanas de la vida de la planta. Is. Pierre ha demostrado que, en el espacio de veinte días, la cantidad de fécula podía así triplicar.

El tallo del trigo no contiene fécula; el único hidrato de carbono que contiene en abundancia es la *goma de paja* o *xilana* (pág. 152), materia insoluble en el agua, de difícil hidrolisis. Esta substancia no debe verosímilmente ser el primer origen de la fécula de la semilla; en efecto, aumenta de peso casi hasta el término de la vegetación; si disminuye, no lo hace más que de una manera inapreciable (Hébert, 1891). Los azúcares reductores no existen en ningún momento en cantidad notable, ni en el tallo, ni en la semilla. Es preciso, pues, buscar el origen de la fécula en alguna producción particularmente activa de las hojas durante los últimos días de la evolución de la planta, cuando toda la materia nitrogenada hace largo tiempo que está elaborada.

Dehérain y Dupont (1902) hacen notar que, en la época en que la fécula principia a almacenarse de un modo muy notable en la semilla, las hojas inferiores de la planta están ya secas, las superiores lo están parcialmente; únicamente las hojuelas, así como la parte alta de los tallos, poseen un color marcadamente verde. Pues bien, la experiencia demuestra que estas hojuelas son incapaces de descomponer el gas carbónico; pero, la parte alta de los tallos, en una longitud de 8 a 9 cm. hasta la espiga, todavía descompone enérgicamente a este gas. A fin de comprobar los resultados inmediatos de esta descomposición, los citados autores cortan las espigas de cierto número de plantas de trigo el 19 de julio a las ocho de la mañana y, al día siguiente, recolectan los tallos así mutilados al mismo tiempo que recogen un número igual de tallos, provistos aún de sus espigas. Se separan las últimas y se analizan los tallos solos. Todos los tallos seccionados, intactos y mutilados, son desecados, pulverizados y analizados. He aquí los resultados obtenidos, referidos a 100 partes de materia seca:

	Tallos de espigas cortadas	Tallos intactos
Azúcares reductores. . .	1,33	1,40
Fécula, dextrinas, azúcares no reductores calculados en glucosa	4,61	0,23
Materias nitrogenadas . .	9,18	9,10

La materia nitrogenada contenida en la parte alta de los tallos ha persistido y no se ha solubilizado. No ha penetrado en la espiga, puesto que se encuentran de ella las mismas cantidades en los tallos intactos que en los que han sido mutilados. En cuanto a los hidratos de carbono no reductores, son mucho más abundantes en los tallos sin espigas que en los otros. La diferencia de peso de estos hidratos de carbono en los dos grupos de tallos: 4,61 — 0,23 = 4,38, demuestra que han debido penetrar en las espigas e insolubilizarse en forma de fécula.

Se debe deducir, pues, con Dehérain y Dupont, que, en el trigo, la parte superior de los tallos es la que se encarga

tardíamente de suministrar a la semilla los hidratos de carbono solubles que ésta condensará en forma de fécula.

Pero, si los tallos, y sobre todo su parte superior, experimentan una desecación prematura, la cosecha no contendrá más que una cantidad insuficiente de fécula.

Centeno. — La semilla del centeno, y probablemente también la de otras gramíneas, presenta algunas particularidades interesantes al acercarse a su madurez y en el momento en que ésta es alcanzada, y luego pasada. Los siguientes hechos han sido observados por Müntz (1886).

Si se observa el peso de la substancia seca de la semilla a medida que adelanta la maduración, se nota, en una época próxima al punto que se considera como el de la madurez, un paro de crecimiento seguido pronto de una disminución de peso. Esta disminución es atribuíble a la intensidad de la respiración. Hacia la época de su madurez, la semilla contiene aproximadamente la mitad de su peso de agua; respira enérgicamente y pierde de peso. Pero, esta pérdida está por de pronto ampliamente compensada por el aflujo de substancias alimenticias procedentes del resto de la planta que se dirigen a la semilla. Viene luego un estado de equilibrio en que la ganancia de substancia es igual a la pérdida respiratoria: la semilla posee entonces su peso máximo; debe recolectarse, si no disminuirá su peso. Recolectada y desecada cuando se ha llegado al límite de la maduración, la semilla apenas disminuirá de peso, porque está así privada de la gran proporción de agua que contenía y que era la causa de su respiración activa.

A fin de conocer hasta qué época la semilla recibe un peso de substancias alimenticias superior a la pérdida que sufre por respiración, Müntz determina, en las proximidades de la madurez, la proporción de agua contenida en el *raquis* en que están implantadas las semillas y que es la vía de paso de los materiales que van a acumularse en ellas. Se encuentra que el raquis se deseca más rápidamente que la semilla y, cuando la proporción de agua que contiene es inferior a 15 por 100, la semilla no recibe ya los jugos nutritivos en cantidad suficiente para compensar la pérdida respiratoria. Así, el peso de su substancia seca disminuirá, del mismo modo que su agua de vegetación.

De esto se deduce que la época en que el raquis, por efecto del progreso de su desecación, no contiene más que 15 por 100 de agua aproximadamente, debe ser el momento propicio para la recolección. Las diferentes fases del fenómeno que acabamos de analizar, se encuentran expresadas en el siguiente cuadro:

	100 semillas secas que pesan	Agua contenida en 100 p. de semillas frescas		Proporción centesimal del agua en el raquis
	gr.			
28 junio 1881.	2,85	53,4	»	»
29 — . .	2,96	52,0	»	»
1.° julio . .	3,30	50,5	Semillas casi maduras.	28,5
2 — . .	3,36	45,7	Semillas maduras.	30,2
4 — . .	3,29	43,3	Idem.	15,4
6 — . .	3,12	34,4	Madurez completa.	14,5
11 — . .	2,92	15,7	Madurez pasada.	7,7
13 — . .	2,87	12,6	Idem.	6,7

Remolacha.—Las materias azucaradas se engendran en las hojas; el peso de éstas es considerable en la planta joven y sobrepuja primero mucho al peso de la raíz. A medida que progresa la vegetación, la relación entre el peso de las hojas y el de la raíz baja poco a poco y, hacia el mes de agosto, el peso de la raíz principia a ser mayor que el de las hojas. Al fin de la vegetación, el peso de la raíz es muy superior al de las hojas. Esto es lo que resulta de las observaciones de Pagnoul (1879): el peso de la raíz supuesto igual a 100, los pesos de las hojas presentan los valores siguientes:

11 junio	22 junio	1.° julio	12 julio	21 julio	31 julio	10 agosto
890	581	355	211	151	134	93

20 agosto	30 agosto	9 sepbre.	19 sepbre.	29 sepbre.	9 oct.	19 oct.	29 oct.
65	43	35	19	12	18	9	12

Durante la primera parte del desarrollo del vegetal, el sistema foliáceo fabrica grandes cantidades de materias azucaradas, las cuales emigran a la raíz. El mecanismo de la acumulación del azúcar fué examinado ya antes (pág. 566), y aquí no se trata más que de buscar en qué forma aparece primitivamente la materia azucarada.

Se encuentra en la hoja una mezcla de azúcar invertido y de sacarosa; esta última, ¿procede de la fécula que produce la función clorofílica o bien se forma en la raíz? Parece que en todos los casos, la sacarosa se convierte en azúcar invertido antes de emigrar a la raíz. Llegado a este órgano, este azúcar invertido pierde una molécula de agua y se condensa en forma de sacarosa.

Sin embargo, en la hoja, las dos hexosas (glucosa y levulosa) que constituyen el azúcar invertido no parecen existir nunca en pesos iguales. La proporción de levulosa contenida en el azúcar invertido es tanto menor cuanto más joven es el tejido. En efecto, cuando en la hoja, o en una de sus partes, hay formación activa de tejidos, se observa que la glucosa predomina sobre la levulosa, como si esta última fuese especialmente utilizada para la construcción de la armazón del vegetal. Cuando esta elaboración de tejidos se atenúa y la respiración se vuelve más enérgica, se ve, por el contrario, que el peso de la levulosa sobrepuja al de la glucosa. Este último azúcar parece ser, pues, especialmente quemado en la respiración (Lindet, 1900).

Se debe a Girard (1882, 1886) un estudio muy extenso sobre la manera como el azúcar se forma y se almacena luego en la raíz. De determinaciones efectuadas ocho veces en una temporada, a las cuatro de la tarde y a las tres de la mañana, este autor deduce que las cantidades de azúcar reductor contenidas en los limbos son, en una fecha dada, aproximadamente las mismas al declinar el día y al terminar la noche. No se las ve aumentar gradualmente más que cuando avanza el desarrollo de la planta. Por el contrario, las cantidades de sacarosa que contienen los limbos, independientes de la edad del vegetal, dependen directamente de la cantidad de luz que la planta recibe. Cuando el día ha sido de mucha luz, estas cantidades son considerables al anochecer y pueden llegar a veces al 1 por 100; son menores en el caso de una iluminación mediana. La mayor parte de esta sacarosa, formada durante el día, desaparece durante la noche; más de la mitad pasa a la raíz. El aumento de la riqueza sacarina de ésta está íntimamente relacionado con las condiciones meteorológicas.

El peso de la raíz aumenta de una manera regular, pero esta raíz se carga, ya de agua, ya de azúcar, según las circunstancias. Entre los meses de junio y octubre, la proporción de agua en la cepa baja de 88,8 a 82,4 por 100, y la proporción del azúcar se eleva de 4,5 a 12,2. La suma del agua y el azúcar está, pues, representada por un número

aproximadamente constante, próximo a 94 por 100 del peso de la raíz. Ésta almacena azúcar hasta el término de la vegetación.

En las condiciones normales, el azúcar persiste en la cepa; las hojas nuevas que se forman no toman a la raíz más que una proporción insignificante de azúcar. No ocurre lo mismo si se quita, en ciertas épocas, una parte de las hojas de la planta; la cantidad de azúcar formado es entonces tanto menos abundante cuanto mayor ha sido la desfoliación. Esto es lo que se ve en el ejemplo siguiente:

	Peso de la raíz	Agua p. 100	Azúcar p. 100	Suma del agua y el azúcar
	gr.			
Remolachas deshojadas 3 veces.	465	89,94	4,4	94,34
— 3 —	640	88,46	5,2	93,66
— 1 vez.	1485	85,53	8,0	93,53

(Dehérain.)

La migración *inversa* del azúcar almacenado en la cepa es fácil de comprobar en el experimento que citamos a continuación debido a Corenwinder y Contamine. Si se arrancan todas las hojas de una fila de remolachas plantadas en un campo, se encuentra que estas remolachas, comparadas con plantas normales, han perdido, en cuarenta y cinco días, 45 por 100 de la cantidad inicial del azúcar que contenían. Entonces aparecen nuevas hojas; éstas toman de la raíz los hidratos de carbono necesarios para su formación. Si, por otra parte, se arranca del suelo una remolacha no tocando la parte de tierra en que estaba fijada y se pone luego el conjunto en la sombra con una iluminación insuficiente, se observa que las hojas ya no crecen. Otras hojas se desarrollan en el centro de la base de la raíz; pero, las más viejas amarillean y caen. Al cabo de muchas semanas, una remolacha así tratada no ha aumentado de peso; ha consumido todo el azúcar que contenía su raíz: los nuevos brotes han absorbido y elaborado este azúcar para subvenir a las necesidades de su desarrollo.

La sacarosa, al pasar de la raíz a los órganos aéreos, recobra la forma de azúcar reductor.

Sabido es que, para obtener semillas, se planta en la primavera del año siguiente la remolacha arrancada del suelo en otoño. Las variaciones que experimenta el peso del azúcar durante este segundo año de vegetación, han ocasionado numerosas discusiones cuyos resultados distan mucho de ser concordantes.

Péligot (1876) ha demostrado que el azúcar de estas remolachas madres replantadas disminuía al principio de su vegetación; este azúcar es empleado para la producción de las primeras hojas. Des-

pués, y hasta la formación de las semillas, la proporción de azúcar permanece constante: las hojas y los tallos toman entonces su carbono al gas carbónico atmosférico. Pero, cuando aparecen las semillas, el azúcar disminuye rápidamente, y desaparece totalmente en la madurez. Por lo general, en la época de la recolección de las semillas, la raíz de la remolacha se ha vuelto leñosa y apenas contiene ya azúcar.

Sin embargo, cuando la planta es vigorosa puede producir azúcar en abundancia, de tal manera que su raíz recupera las pérdidas que ha sufrido anteriormente.

Según Ruhland (1912), la invertina (pág. 131) se encuentra en todas las partes de la remolacha, a excepción de la simiente. Se halla siempre en la raíz completamente desarrollada.

Durante el crecimiento del vegetal, las propiedades invertásicas de la raíz se atenúan pronto y no subsisten más que en las raíces jóvenes en vía de evolución.

—A propósito de las plantas sacarinas, mencionemos los resultados de los experimentos de Heckel (1912) relativamente a la influencia de la castración masculina, femenina y total en la formación del azúcar en los tallos del maíz y del sorgo azucarado. Los ensayos efectuados en el año 1912, año muy frío, aun en el mediodía de Francia, demuestran que la castración completa ha enriquecido el tallo en azúcar más que la castración masculina y femenina separadamente. A partir del mes de septiembre, la riqueza en sacarosa tiende a disminuir y el rendimiento a igualarse en los tres modos de mutilación. Así se ha encontrado, en 100 centímetros cúbicos de zumo de los tallos de maíz:

			Castración		
		Testigo no mutilado	Masculina	Femenina	Completa
10 agosto.	Sacarosa	5,38	9,27	5,52	11,45
	Levulosa y glucosa	1,76	1,52	1,82	0,79
30 agosto.	Sacarosa	5,10	11,20	6,19	11,98
	Levulosa y glucosa	1,40	1,20	1,50	1,20
19 sept..	Sacarosa	7,19	10,47	9,68	10,88
	Levulosa y glucosa	1,83	1,17	1,32	1,32

El sorgo da resultados del mismo orden.

El zumo procedente de los tallos prensados, tanto del maíz como del sorgo, contiene una proporción de fécula relativamente considerable.

Patata.—La fécula que contienen los tubérculos tiene su origen en las materias hidrocarbonadas que engendra la fun-

ción de asimilación. El vegetal constituye primero su aparato foliáceo, y solamente hacia el mes de julio los productos elaborados en las hojas principian a almacenarse en los tubérculos nacientes. A partir del mes de agosto, el peso de los órganos subterráneos sobrepuja al de los órganos aéreos, y la diferencia se acentúa cada vez más. En septiembre, el peso de los tubérculos queda poco más o menos estacionario hasta el fin de la vegetación.

El origen de la fécula del tubérculo es también aquí la sacarosa de las hojas, cuya proporción es tanto más elevada cuanto más viva es la luz recibida por la planta (A. Girard, 1889). Se observa igualmente en las hojas de presencia de la fécula.

Como en el caso de la remolacha, el agua y la fécula varían en sentido inverso; pero, su suma es aproximadamente constante. La sacarosa existe en cantidades notables en los tubérculos en vía de maduración; disminuye poco a poco, pero no desaparece nunca completamente en el tubérculo maduro. Los azúcares reductores faltan en este último. Las substancias nitrogenadas y la fécula aumentan, por el contrario, muy regularmente mientras dura la vegetación, y este aumento regular no es perturbado más que por las variasiones meteorológicas.

La acumulación de la fécula disminuye cuando las hojas amarillean; cesa con su desecación.

La causa de la acumulación de la fécula debe buscarse en su insolubilidad. Este hidrato de carbono se deposita en el tubérculo por un mecanismo análogo al que preside la acumulación de los fosfatos y de la fécula en las semillas. Se comprende que esta formación de fécula, que tiende a mantener el equilibrio osmótico de las substancias disueltas en todas las partes de la planta, no se detiene más que en el momento en que la hoja, productora de hidratos de carbono, cesa de funcionar.

Inversamente, cuando el tubérculo germina, la fécula adquiere la forma de azúcares solubles.

Migración de los principios inmediatos en los tubérculos en germinación.—Se observa un movimiento de

migración muy notable en el tubérculo de la patata en vías de germinación. Este fenómeno ha sido estudiado por Prunet (1892).

Las yemas próximas al extremo del tubérculo son las que más crecen, se desarrollan más pronto y más rápidamente que las próximas a su base. Si se comparan los tubérculos no germinados con los tubérculos en vías de germinación, determinando en las dos mitades de cada tubérculo (anterior y posterior) la materia seca, los azúcares, la fécula, las dextrinas, el nitrógeno en diferentes formas, los ácidos combinados, las cenizas, se encuentra que, en los tubérculos no germinados, las mitades anteriores son más ricas en estas diferentes substancias que las mitades posteriores. Los tubérculos en vías de germinación presentan diferencias análogas, pero todavía más marcadas. En las tres variedades de patatas estudiadas por Prunet, no existían, antes de la germinación, ni azúcares solubles, ni diastasas. En los tubérculos en vías de germinar, los azúcares y las diastasas aparecen primero en las mitades anteriores, mientras que estas materias todavía faltan en las mitades posteriores. Del mismo modo, la proporción del nitrógeno de las amidas, con relación al nitrógeno total, aumenta más rápidamente hacia el extremo superior del tubérculo que hacia su base. El desarrollo más rápido de las yemas anteriores se explica fácilmente por el predominio, en su proximidad, de las materias nutritivas de reserva.

Notemos que estas diferencias en la repartición de los principios inmediatos y de las substancias minerales en las dos mitades del tubérculo *no son originales:* un tubérculo joven, que todavía no ha terminado su crecimiento, no las presenta. Esta migración de la base al ápice no se realiza más que en el tubérculo que ha alcanzado su tamaño definitivo.

Si se quitan ahora de un modo sistemático las yemas anteriores desde que aparecen, se ve que se establece gradualmente en el tubérculo una repartición de las substancias nutritivas *inversa de la repartición normal.* Estas substancias, no encontrando ya empleo en las mitades anteriores, emigran a las yemas posteriores, que se desarrollan más

rápidamente que las yemas posteriores de los tubérculos cuyas yemas anteriores no han sido quitadas.

Resumen.—Todos los hechos que hemos señalado en este capítulo ponen de manifiesto la naturaleza de los fenómenos de migración que conducen a la maduración de los frutos, de las semillas y de los órganos subterráneos de reserva.

La hoja elabora las substancias hidrocarbonada por el funcionamiento de la sola acción clorofiliana; elabora al mismo tiempo la materia nitrogenada, gracias al encuentro del nitrógeno mineral procedente del suelo con las substancias ternarias de nueva formación. Desde que aparecen las flores, o desde que ciertos órganos subterráneos se forman, se manifiesta un movimiento de transporte que, partiendo de las hojas, conduce a través de los vasos del tallo los principios inmediatos que estas hojas han fabricado y almacenado provisionalmente. Durante todo el tiempo que dura este *viaje* de los principios inmediatos, éstos toman una forma soluble, difusible, en relación con el trabajo que están obligados a hacer. Llegados a su destino, cambian de naturaleza física y química; se polimerizan siempre, a menudo hasta se insolubilizan (fécula, albuminoides); a veces sus funciones químicas se modifican profundamente (producción de grasa a expensas de los hidratos de carbono).

La materia mineral acompaña siempre a la materia orgánica en las diferentes formas en que ésta evoluciona. Existen estrechas relaciones entre el depósito de los albuminoides y la acumulación de ciertos compuestos fosforados, entre el depósito de los hidratos de carbono y el de la potasa: como si esta materia mineral, en estados evidentemente complejos, desempeñase un papel esencial en el transporte de la materia orgánica por una parte y, por otra, en su polimerización o su insolubilización en el lugar de llegada.

ÍNDICE ALFABÉTICO

A

D

G

H

I

J

K

L

M

N

Q

R

S

T

ÍNDICE DE MATERIAS

CAPÍTULO IV

CAPÍTULO V

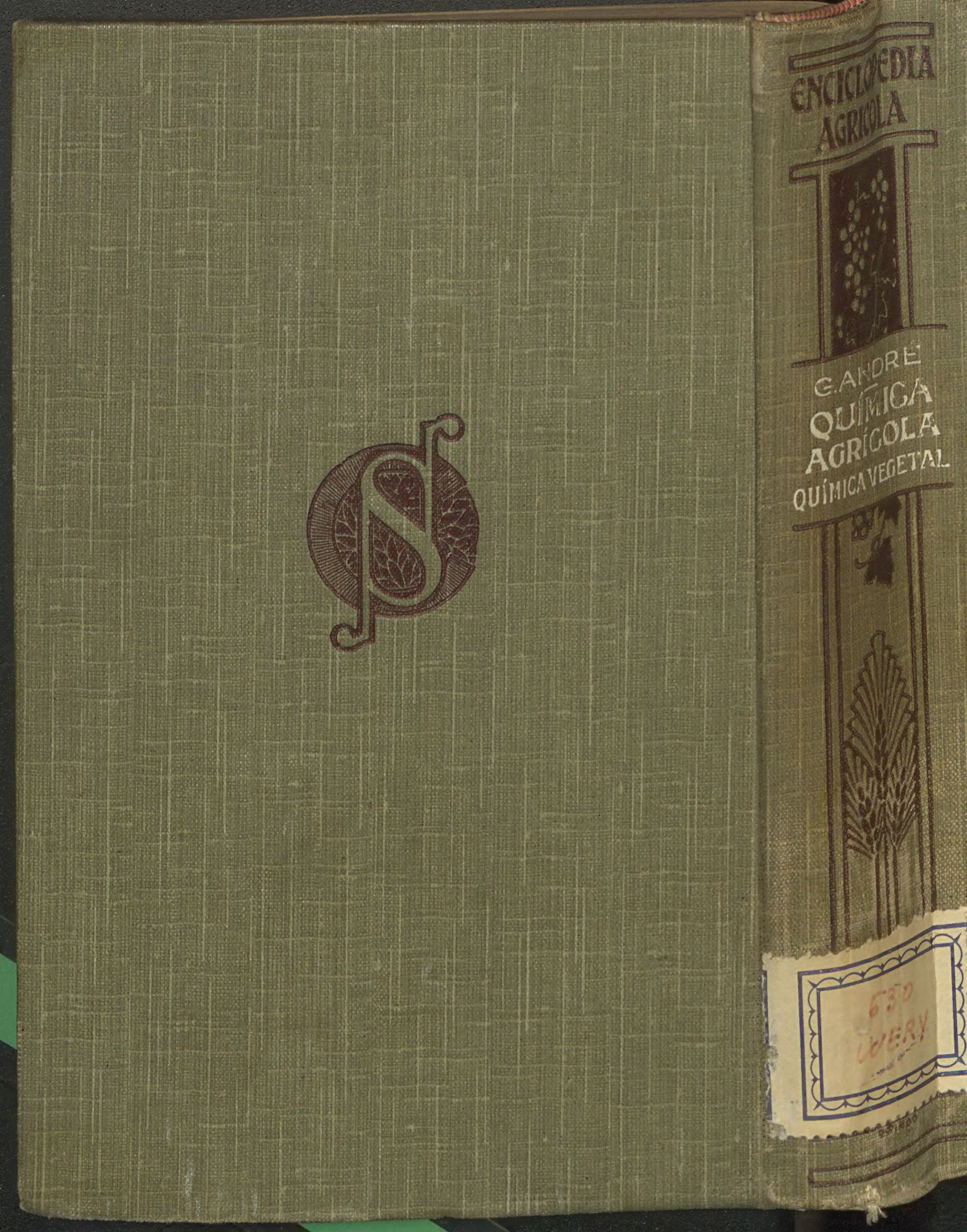
CAPÍTULO VIII

CAPÍTULO IX

CAPÍTULO X

CAPÍTULO XI

CAPÍTULO XII


ENCICLOPEDIA
AGRICOLA
G. ANDRE
QUÍMICA
AGRÍCOLA
QUÍMICA VEGETAL